



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

O EFEITO DE ALGUNS FACTORES NA EFICIÊNCIA DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM
TEMPO FIXO EM BOVINOS DE CARNE

INÊS DA SILVA RAIMUNDO

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luís Filipe Lopes da Costa

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

Doutor João Nestor das Chagas e Silva

ORIENTADOR

Doutor João Nestor das Chagas e Silva

2014

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

O EFEITO DE ALGUNS FACTORES NA EFICIÊNCIA DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM
TEMPO FIXO EM BOVINOS DE CARNE

INÊS DA SILVA RAIMUNDO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luís Filipe Lopes da Costa
Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus
Doutor João Nestor das Chagas e Silva

ORIENTADOR

Doutor João Nestor das Chagas e Silva

2014

LISBOA

À minha mãe, que me ensinou o significado de não desistir.

Ao meu pai, que me transmitiu o amor e respeito pelos animais.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Doutor João Nestor das Chagas e Silva, que é um grande professor. Obrigada por todo o esforço no sentido da transmissão de conhecimentos, pelo apoio durante todo o trabalho e por toda a disponibilidade, amizade e compreensão.

Ao Sr. João Correia, que me permitiu o estágio na empresa JMPC. Obrigada por toda a amabilidade e simpatia.

A todos os funcionários da empresa JMPC, em especial ao Dr. João Camejo, que me permitiu acompanhar a sua rotina diária. Agradeço também, em especial, ao Engenheiro Duarte e Sr. Pacheco por tudo o que me ensinaram.

Ao Dr. Rui Silva, que é uma inspiração como médico veterinário e como pessoa. Obrigada por todos os valores de competência, esforço e respeito pelo animal transmitidos.

Ao Prof. Dr. George Stilwell, que é mais uma referência para mim. Obrigada por ensinar sempre com gosto e por ter sempre presente na prática clínica o bem-estar animal.

Ao Prof. Dr. Telo da Gama e à Prof. Dra. Isabel Neto pela ajuda e sugestões no tratamento estatístico.

Ao Dr. Telmo Nunes, que forneceu os dados relativamente às constantes ambientais.

Aos meus pais, que sempre colocaram os meus interesses à frente de tudo o resto. Obrigada por estarem presentes em todas as etapas da minha vida, por me apoiarem em tudo e por acreditarem em mim.

À minha família, principalmente aos meus tios e avô, que sempre me apoiaram e me facilitaram para que a maioria do meu tempo fosse dispendido no estágio e na escrita da dissertação.

Obrigada aos meus amigos, sobretudo aos que me acompanharam nas fases mais felizes e complicadas do curso.

À minha amiga Vicelina, pelo apoio e pelas sugestões que permitiram uma melhoria neste trabalho.

A todos os animais que apareceram na minha vida e que fizeram com que todo o esforço valesse a pena.

O EFEITO DE ALGUNS FACTORES NA EFICIÊNCIA DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) EM BOVINOS DE CARNE

RESUMO

A partir de 385 IATF realizadas em fêmeas bovinas de carne foram estudados os efeitos de diversos factores: tipo de inseminação artificial (IA), técnico de inseminação, intervalo entre a descongelação da palhinha de sémen e a deposição da dose no aparelho reprodutor da vaca, factores ambientais, número de partos e idade das vacas, intervalo parto-IA e raça na eficiência da técnica, medida objectivamente através da taxa de gestação.

Todas as fêmeas foram sujeitas a um protocolo de sincronização de ovulação do tipo *CO-Synch* modificado, com recurso a um dispositivo intravaginal de libertação controlada de fármaco (CIDR) e gonadotrofina coriónica equina (eCG). A taxa de gestação foi calculada com base no diagnóstico de gestação, realizado através de ecografia cerca de 30 dias após a IA.

Verificou-se que o tipo de IA (intracornual profunda, à entrada do corpo do útero ou cervical) não influenciou a taxa de gestação ($p \geq 0,05$), tal como o número de partos e idade da fêmea, intervalo parto-IA e a raça ($p \geq 0,05$).

Os factores ambientais temperatura mínima, média e máxima, humidade relativa, velocidade do vento e precipitação também não exerceram influência na taxa de gestação ($p \geq 0,05$), tal como o índice temperatura-humidade (ITH), que relaciona temperatura e humidade relativa. Ao contrário de outros estudos, $ITH > 74$ não foi responsável por quebras nas taxas de gestação ($p \geq 0,05$).

Não foi possível estabelecer relação entre o técnico de inseminação e a eficiência da IATF em bovinos de carne ($p \geq 0,05$).

Os factores intervalo descongelação-IA e traumatismo associado à IA influenciaram a taxa de gestação ($p < 0,05$). Concluiu-se que quanto maior o intervalo descongelação-IA, menor a probabilidade da fêmea bovina ficar gestante. Também a ocorrência de traumatismo diminuiu as hipóteses das vacas ficarem gestantes. Adicionalmente, registou-se evidência de relação entre estes dois factores.

Palavras-chave: Inseminação artificial em tempo fixo; inseminador; taxa de gestação; *stress* hipertérmico; bovinos de carne; inseminação artificial intracornual profunda; inseminação artificial convencional; inseminação artificial cervical; traumatismo; protocolos sincronização ovulação.

THE EFFECT OF SOME FACTORS ON EFFICIENCY OF FIXED-TIME ARTIFICIAL INSEMINATION (FTAI) IN BEEF CATTLE

ABSTRACT

From 385 FTAI carried out on beef females some factors were studied like the type of artificial insemination (AI), insemination technician, interval between the thawing and the deposition of the semen on the reproductive tract of the cow (thawing-AI interval), environmental factors, parity and age of cows, calving-AI interval and breed, which may influence the fertility, measured objectively through the pregnancy rate.

All bovine females were synchronized for ovulation through a CO-Synch modified protocol, adding an intravaginal device controlled drug release (CIDR) and equine chorionic gonadotropin (eCG). The pregnancy rate was calculated on the basis of the pregnancy diagnosis, carried out through ultrasound approximately 30 days after AI.

There was no difference ($p \geq 0,05$) between deep cornual insemination, conventional insemination (semen deposition into the uterine body) and cervical deposition. The cow age or parity, interval between calving and AI and the breed also did not influence the pregnancy rate ($p \geq 0,05$).

Environmental factors like average, maximum and minimum daily temperatures, relative humidity, wind speed and precipitation also did not exert influence on the rate of pregnancy ($p \geq 0.05$), as the temperature-humidity index (THI), which relates temperature and relative humidity. Unlike other studies, $ITH > 74$ was not responsible for decrease on the pregnancy rates ($p \geq 0.05$).

It had not been possible to establish if there was any relationship between the insemination technician and the efficiency of FTAI in beef cattle.

The thawing-AI interval and trauma associated to AI influenced the pregnancy rate ($p < 0,05$). It was concluded that the higher the thawing-AI interval, the lower probability of the cow becoming pregnant. Also the occurrence of traumatic injuries didn't favor the chances of bovine females becoming pregnant. In addition, we have found evidence of correlation between these two factors.

Keywords: Fixed-time artificial insemination, insemination technician, pregnancy rate, heat stress, beef cattle, deep cornual insemination, conventional insemination, cervical insemination, traumatic injuries, ovulation synchronization protocols.

ÍNDICE GERAL

I. OBJECTIVOS	1
II. RELATÓRIO DE ESTÁGIO	2
1. Herdade da Carrasqueira (Palmela)	2
2. Litoral Alentejano e Algarve	3
3. Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa	4
III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
1. GENERALIDADES SOBRE O MANEIO REPRODUTIVO EM BOVINOS DE CARNE	6
1.1 Sistemas de produção de bovinos	6
1.2 O sector da carne	6
1.2.1 A nível nacional	6
1.3 Maneio da fertilidade da vacada	8
1.3.1 Idade ao primeiro parto	9
1.3.2 Intervalo entre partos (IEP)	10
1.3.2.1 Anestro pós-parto	11
1.3.2.1.1 Amamentação	11
1.3.2.1.2 Nutrição	13
1.3.2.1.3 Bioestimulação através da presença do touro	14
1.3.3 Sistemas de manejo reprodutivo	14
1.3.3.1 Épocas reprodutivas e produção de pastagens	15
1.3.3.2 Condição corporal (CC) e ciclo reprodutivo	17
1.3.4 Exame ginecológico das fêmeas	19
1.3.5 Exame andrológico dos machos	21
1.3.6 Diagnóstico de gestação	25
2. INDUÇÃO E SINCRONIZAÇÃO DE OVULAÇÃO PARA IATF EM BOVINOS DE CARNE	26
2.1 Generalidades sobre o ciclo éstrico	26
2.1.1 Regulação endócrina do ciclo éstrico	27
2.1.2 Actividade ovárica durante a gestação	29
2.1.3 Actividade ovárica no pós-parto	29
2.2 Importância dos protocolos de sincronização de ovulação numa vacada de carne	31
2.3 Bases da sincronização	32
2.3.1 Prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) e seus análogos	32
2.3.2 Progesterona (P_4) e seus análogos	33

2.3.2.1 Acetato de Melengesterol (MGA)	34
2.3.2.2 Dispositivos intravaginais de progesterona	34
2.3.3 Gonadolibarina (GnRH) e seus análogos	35
2.4 Protocolos combinados	36
2.5 Protocolo <i>Ovsynch</i>	36
2.6 Algumas modificações do protocolo <i>Ovsynch</i>	38
2.6.1 Co-Sincronização (<i>CO-Synch</i>)	38
2.6.2 Importância da pré-sincronização associada a um protocolo para IATF	39
2.6.2.1 <i>Pré-Synch</i>	41
2.6.2.2 Duplo <i>Ovsynch</i> (Double- <i>Ovsynch</i>)	42
2.6.2.3 Utilização de P ₄	42
2.7 Novilhas de substituição	42
2.7.1 Protocolos <i>Ovsynch</i> e <i>CO-Synch</i>	43
2.7.2 P ₄ associada ao <i>Ovsynch</i> ou <i>CO-Synch</i>	44
2.7.2.1 Utilização de acetato de melengesterol (MGA).....	45
2.7.2.2 Utilização do CIDR	45
2.8 Anestro pós-parto	49
2.8.1 Protocolos <i>Ovsynch</i> e <i>CO-Synch</i>	49
2.8.2 P ₄ associada ao <i>Ovsynch</i> ou <i>CO-Synch</i>	49
2.8.3 Indução hormonal da ciclicidade em vacas anéstricas	49
2.8.3.1 Com GnRH	49
2.8.3.2 Com progestagêneos	50
2.8.3.3 Com eCG	51
3. FACTORES QUE CONDICIONAM A EFICÁCIA DA IA.....	51
3.1 A IA.....	51
3.1.1 A técnica.....	53
3.1.2 O inseminador	56
3.1.3 Tempo entre a descongelação da palhinha e a deposição do sémen	59
3.2 Factores ambientais	60
3.2.1 <i>Stress</i> térmico	60
3.3 Factores individuais.....	63
3.3.1 Fêmea	63
3.3.1.1 Número de partos e idade	63
3.3.1.2 Intervalo parto-IA	66
3.4 Raça.....	67
IV. TRABALHO EXPERIMENTAL.....	68

4.1 Introdução.....	68
4.2 Material e métodos	69
4.2.1 Recolha dos dados e dimensão da amostra.....	69
4.2.2 Caracterização da exploração	71
4.2.3 Maneio reprodutivo	72
4.2.4 Condições ambientais e avaliação do <i>stress</i> hipertérmico.....	72
4.3 Análise estatística.....	73
4.4 Resultados e discussão	73
4.4.1 Estatística descritiva: descrição dos resultados	73
4.4.1.1 Caracterização dos animais.....	73
4.4.1.2 Caracterização dos factores não associados ao animal	75
4.4.1.2.1 Tipo de IA	75
4.4.1.2.2 Técnico	75
4.4.1.2.3 Intervalo descongelação-IA.....	77
4.4.1.2.4 Condições ambientais e <i>stress</i> hipertérmico	77
4.4.1.2 Taxa de gestação	78
4.4.2 Estatística inferencial: relação dos factores com a fertilidade.....	78
4.4.2.1 Raça	78
4.4.2.2 Número de partos / Idade	79
4.4.2.3 Intervalo parto-IA	81
4.4.2.4 Técnica utilizada na IA	81
4.4.2.5 Técnico da inseminação	82
4.4.2.6 Intervalo descongelação-IA	83
4.4.2.7 Condições ambientais e <i>stress</i> hipertérmico	85
V. CONCLUSÃO.....	88
VI. BIBLIOGRAFIA.....	89
ANEXOS	101
Anexo I - Frequências absolutas (<i>f_i</i>) e frequências relativas (<i>f_r</i>) dos animais em estudo para cada factor.....	101
Anexo II – Frequências relativas por factor em estudo	102
Anexo II (continuação) – Frequência relativa por factor em estudo	103
Anexo III – Algumas características das raças em estudo	104

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Marcos anatómicos para avaliação da condição corporal (adaptado de Machado et al., 2008).....	18
Figura 2: Alteração das estruturas ováricas e das concentrações hormonais ao longo de um ciclo éstrico (adaptado de O'Connor, 1993).....	20
Figura 3: Dispositivo intravaginal de libertação de progesterona (PRID) (Rathbone, Bunt & Burggraaf, 1997).....	34
Figura 4: CIDR (Rathbone et al., 1997).	34
Figura 5: Esquema representativo do protocolo <i>Ovsynch</i>	37
Figura 6: Dinâmica folicular em vacas sujeitas ao <i>Ovsynch</i> (adaptado de Baruselli, 2007)....	37
Figura 7: Esquema representativo do protocolo <i>CO-Synch</i>	38
Figura 8: Ilustração do <i>Pré-Synch</i>	41
Figura 9: Esquema de pré-sincronização com MGA.....	45
Figura 10: Ilustração esquemática do protocolo <i>CO-Synch + CIDR</i>	46
Figura 11: Ilustração esquemática do protocolo <i>CIDR Select</i>	46
Figura 12: : Ilustração esquemática do protocolo <i>Show-Me-Synch</i>	47
Figura 13: Ilustração esquemática do protocolo 5-d <i>CO-Synch + CIDR</i>	48
Figura 14: Diagrama representativo do aparelho genital da vaca com representação linear ampliada do oviducto. 107, 105, 103 e 102 representam a diminuição abrupta do número de espermatozóides após a cobrição da fêmea entre a vagina e o local da fecundação no oviduto (adaptado de Hunter, 2001).	53
Figura 15: Representação da palpação transrectal do útero (Dejarnette & Nebel, n.d.a).....	54
Figura 16: Entrada do <i>pistolet</i> no cérvix e passagem deste através das pregas (Dejarnette & Nebel, n.d.a).....	55
Figura 17: Entrada do <i>pistolet</i> no corpo do útero e colocação lenta de gotas de sémen na entrada deste (Dejarnette & Nebel, n.d.a).	55
Figura 18: Esquema do protocolo de sincronização da ovulação utilizado no trabalho experimental.	72

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Casuística das actividades desenvolvidas durante o estágio na Herdade da Carrasqueira.....	2
Tabela 2: Casuística das actividades desenvolvidas durante o estágio no Litoral Alentejano e Algarve.	3
Tabela 3: Casuística das actividades desenvolvidas durante o estágio com o Prof. Dr. Stilwell.	5
Tabela 4: Casuística das actividades desenvolvidas durante o estágio com o Doutor Nestor....	5
Tabela 5: Principais índices reprodutivos numa vacada de carne.	9
Tabela 6: CC na escala de 1 a 5 (adaptado de Machado, Corrêa, Barbosa & Bergamaschi, 2008).....	17
Tabela 7: Exame e algumas patologias associadas a cada órgão do sistema reprodutor do touro (Campos et al., 2005; Anónimo, 2013).	22
Tabela 8: CE mínima recomendada (adaptado de Spitzer et al., 2011).....	23
Tabela 9: Parâmetros de análise macroscópica de sémen (Durão, 1994; Verberckmoes, Van Soom & de Kruif, 2004; Anónimo, 2013).....	24
Tabela 10: Parâmetros de análise microscópica do sémen (Chagas e Silva, 1985; Verberckmoes et al., 2004; Campos et al., 2005; Spitzer et al., 2011; Anónimo, 2013; Paloma, 2013).....	24
Tabela 11: Alguns métodos para diagnóstico de gestação em bovinos (adaptado de Ball & Peters, 2004c, Gordon, 2004c).	25
Tabela 12: Percentagens de concepção e de nascimentos em vacas, quando a IA foi feita a intervalos variados, após a 2ª GnRH do Ovsynch (adaptado de Pursley et al., 1998).	38
Tabela 13: Taxas de sincronização e gestação de novilhas de carne em fase pré-púbere ou cíclica, quando tratadas com a PGF2 α ou através da inserção de CIDR e administração de PGF2 α (adaptado de Lucy et al., 2001).	44
Tabela 14: Taxas de gestação em novilhas de carne após a sujeição a protocolos de sincronização para IATF, com recurso a P ₄ (adaptado de Day & Bridges, 2013).	48
Tabela 15: Percentagem de vacas em estro e taxa de gestação (adaptado de Lucy et al., 2001).	49
Tabela 16: Diferenças de taxas de concepção entre vacas com diferente número de partos em alguns estudos.....	63
Tabela 17: Percentagem de vacas de carne cíclicas em função dos dias pós-parto.....	66
Tabela 18: Taxas de concepção em vacas aleitantes, após sincronização do estro ou ovulação, em função dos dias pós-parto.	67
Tabela 19: Medidas descritivas da idade das fêmeas à IA.	73
Tabela 20: Medidas descritivas do intervalo (em dias) desde o último parto à IA.	74
Tabela 21: Medidas descritivas e de dispersão do intervalo descongelação-IA.....	77
Tabela 22: Número de dias em que cada grupo foi exposto a ITH \geq 75 dos 30 dias anteriores à IA (-30) aos 30 dias posteriores a esta (+30).....	78
Tabela 23: Taxa de gestação associada a cada raça e significância associada ao factor.	79
Tabela 24: Taxa de gestação associada ao número de partos de cada fêmea e significância associada aos factores número de partos e idade.....	80
Tabela 25: Taxa de gestação associada ao intervalo parto-IA e significância associada ao factor.	81

Tabela 26: Taxas de gestação associada a cada tipo de IA utilizada e ao factor trauma e significância associada a cada um dos factores.	82
Tabela 27: Taxa de gestação associada a cada um dos técnicos de inseminação e respectiva significância.	83
Tabela 28: Taxa de gestação associada aos técnicos A e C e respectiva significância.	83
Tabela 29: Taxa de gestação e probabilidade de fêmea ficar gestante (P) associada a cada intervalo de tempo descongelamento-IA observado e valor de p do factor.	84
Tabela 30: Valor de p associado a cada uma das variáveis ambientais.	86
Tabela 31: Média do ITH associada aos animais gestantes e não gestantes.	86

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Consumo humano de carne de bovino em Portugal desde 2008 até 2013 (Instituto Nacional de Estatística [INE], 2014).	7
Gráfico 2: Disponibilidade diária de carne de bovino por origem, no ano de 2012 (adaptado de INE, 2014).	7
Gráfico 3: Curva de produção de pastagens em condições de sequeiro mediterrânico (adaptado de Freixal & Barros, 2012).	15
Gráfico 4: Curva de produção de pastagens em condições de regadio mediterrânico (adaptado de Freixal & Barros, 2012).	16
Gráfico 5: Esquema de representação do reinício do ciclo ovário durante o período pós-parto em vacas de carne. Frequência do pulso de LH de 8 em 8 horas (adaptado de Crowe, 2008).	31
Gráfico 6: Percentagem de vacas de carne que responderam à acção da GnRH e da PGF _{2α} em função do dia do ciclo estrico em que o protocolo foi iniciado. Entende-se como resposta à GnRH a ovulação, formação de CL e início de uma nova onda folicular. A resposta à PGF _{2α} implica a regressão do CL (adaptado de Geary et al., 2000).	40
Gráfico 7: Distribuição dos animais por número de partos de acordo com a idade à IA.	74
Gráfico 8: Distribuição das IA traumáticas e atraumáticas por técnica.	75
Gráfico 9: Distribuição da técnica pelo intervalo descongelação-IA.	75
Gráfico 10: Frequências relativas (%) de IA por técnico.	75
Gráfico 13: Distribuição das técnicas de IA por técnico.	76
Gráfico 14: Distribuição do intervalo entre a descongelação do sémen e a sua deposição no aparelho genital da fêmea por técnico de inseminação.	76
Gráfico 15: Distribuição das frequências pelo intervalo descongelação-IA.	77
Gráfico 16: Número de IA e taxas de gestação por grupo.	78
Gráfico 17: Frequência relativa (%) de animais por raça.	79
Gráfico 18: Relação entre a probabilidade da fêmea bovina ficar gestante e o intervalo de tempo descongelação-IA.	84
Gráfico 19: Número de casos de fêmeas gestantes e não gestantes associadas a cada intervalo descongelação-IA observado.	85

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

BHB	β -hidroxibutirato
bPAG	Glicoproteína associada à gestação bovina (bovine pregnancy associated glycoprotein)
bPSPB	Proteína B específica da gestação bovina (bovine pregnancy-specific protein B)
CC	Condição corporal
CE	Circunferência escrotal
CIDR	Dispositivo intravaginal de libertação controlada de fármaco (<i>controlled intra-vaginal drug releasing device</i>)
CL	Corpo lúteo
E₂	Estradiol 17- β
eCG	Gonadotrofina coriônica equina (<i>equine chorionic gonadotropin</i>)
FD	Folículo dominante
FSH	Hormona folículo-estimulante (<i>follicle stimulant hormone</i>)
GnRH	Gonadoliberina (<i>gonadotropin releasing hormone</i>)
h	Hora (s)
ha	Hectare (s)
hCG	Gonadotrofina coriônica humana (<i>human chorionic gonadotropin</i>)
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IEP	Intervalo entre partos
IGF-1	Factor de crescimento insulínico tipo 1 (<i>insulin like growth factor 1</i>)
IGF-2	Factor de crescimento insulínico tipo 2 (<i>insulin like growth factor 2</i>)
INE	Instituto Nacional de Estatística
ITH	Índice temperatura-humidade
Kg	Quilograma (s)
L	Litro (s)
LH	Hormona luteinizante (<i>luteinizing hormone</i>)
MHz	Mega hertz
mg	Miligrama (s)
mL	Mililitro (s)
mm	Milímetro (s)
mmol	Milimol
MS	Matéria seca
Nº ou nº	Número
NEFA	Ácidos gordos não esterificados (<i>non-esterified fatty acids</i>)
ng	Nanograma
p	Significância
P	Probabilidade da fêmea ficar gestante
P₄	Progesterona
PGF_{2α}	Prostaglandia F _{2α}
PRID	Dispositivo intravaginal de libertação de progesterona (<i>progesterone-releasing intra-vaginal device</i>)
spz	Espermatozóide(s)
t	Tonelada(s)
μg	Micrograma
°C	Graus celsius

I. OBJECTIVOS

A inseminação a tempo fixo (IATF), com recurso a protocolos de sincronização da ovulação, tem contribuído de forma decisiva para o melhoramento genético de vacadas de carne (Costa, Airtton & Feitosa, 2011). Antes disto, a inseminação artificial (IA) era um procedimento de difícil implementação em vacadas de carne, muito associado ao regime extensivo de exploração, devido às dificuldades com a eficácia de detecção do estro (Ball & Peters, 2004c). Actualmente existem vários protocolos de sincronização da ovulação e a sua eficácia varia muito entre eles (Lamb, Dahlen, Larson, Marquezini & Stevenson, 2010). No entanto, outros factores podem contribuir para a variação da taxa de gestação.

O objectivo principal deste trabalho foi o de avaliar se o tipo de IA, a ocorrência de trauma, o inseminador, o tempo entre a descongelação da palhinha e a deposição de sémen, as variáveis ambientais, o número de partos e idade da fêmea bovina, o intervalo entre o último parto e a IA e a raça teriam influência na taxa de gestação de bovinos de carne. Também se pretendeu identificar a existência ou não de relação entre estes factores.

Para além disto, pretendeu-se aprofundar o conhecimento sobre o ciclo éstrico das fêmeas bovinas de aptidão cárnica, o maneio deste tipo de explorações e a importância do controlo reprodutivo na eficiência produtiva de uma vacada.

II. RELATÓRIO DE ESTÁGIO

1. Herdade da Carrasqueira (Palmela)

Este estágio teve a duração de 3 meses, de Outubro de 2012 a Janeiro de 2013.

Durante este tempo, a autora teve oportunidade de conhecer a realidade diária de uma exploração de bovinos de carne e de uma exploração intensiva de suínos, acompanhando actividades como desmame, manutenção das pastagens, processamento de ração, pesagem dos animais e avaliação de características da raça para registo no livro genealógico português da raça bovina charolesa.

Para além de acompanhar o médico veterinário residente (Dr. João Camejo), a autora também acompanhou visitas pontuais do Dr. Carlos Sardinha (patologia podal), Doutor Canas Simões (exame andrológico), Doutor Nestor Chagas e Silva (reprodução) e Prof. Dr. George Stillwell (clínica geral).

Tabela 1: Casuística das actividades desenvolvidas durante o estágio na Herdade da Carrasqueira.

Área de intervenção	Actividades	Nº de casos	Espécie
Clínica	Diarreias neonatais	57	Bovina
	Fracturas dos membros	3	
	Míases	9	
	Queratoconjuntivite infecciosa bovina	6	
	Tinha em vitelos	3	
	Patologia podal	Úlcera	
		Dupla sola	
	Indigestão	2	
	Pneumonia	10	
	Pesquisa de hemoparasitas	1	
	Hipocalcémia	1	
	Paralisia dos membros posteriores	2	
	Theileriose	1	
	Necrópsia	2	
	Necrópsia	1	Suína
	Pneumonia	6	
	Abcessos cutâneos	3	
Sanidade Animal	Vacinação	710	Bovina
	Tuberculinização	105	
	Desparasitação	225	
	Vacinação	60	Suína
Reprodução e Obstetrícia	Exame andrológico	29	Bovina
	Abcesso escrotal	1	
	Granuloma epididimário	1	

Tabela 1 (continuação): Casuística das actividades desenvolvidas durante o estágio na Herdade da Carrasqueira.

Área de intervenção	Actividades	Nº de casos	Espécie
Reprodução e obstetrícia	Neoplasia do pénis	1	Bovina
	Diagnóstico de gestação através de ecografia	17	
	Diagnóstico de gestação através de palpação transrectal	51	
	Prolapso uterino	1	
	IA	26	
	Retenção placentária	3	
	Parto distócico	3	
	Prolapso vaginal	1	
	Colocação de comprimidos intrauterinos de terramicina	1	
	Colocação de CIDR	30	
	Diagnóstico de gestação através de ecografia	67	Suína
	IA	18	
	Colheita de sémen e preparação de doses seminais	5	
Outros	Descorna	18	Bovina
	Secagem de tetos	1	
	Cuidados neonatais	23	

2. Litoral Alentejano e Algarve

O estágio no Litoral Alentejano e Algarve foi realizado com o Dr. Rui Silva (Vetotal – S. Teotónio) durante a segunda quinzena de Fevereiro de 2013. Neste estágio, a autora teve oportunidade de acompanhar actividades sobretudo no âmbito da clínica geral de animais de grande porte.

Tabela 2: Casuística das actividades desenvolvidas durante o estágio no Litoral Alentejano e Algarve.

Área de intervenção	Actividade	Nº de casos	Espécie
Clínica	Peritonite	1	Suína
	Ectima contagioso	1	Caprina
	Tiloma	2	Bovina
	Patologia podal	2	
	Dermatite digital	2	
	Diarreia neonatal	7	
	Deslocamento do abomaso	1	
	Fractura dos membros	1	
	Laminite	1	
	Prolapso da bexiga	1	
	Paratuberculose	2	

Tabela 2 (continuação): Casuística das actividades desenvolvidas durante o estágio no Litoral Alentejano e Algarve.

Área de intervenção	Actividade	Nº de casos	Espécie
Clínica	Indigestão vaginal	2	
	Glomerulonefrite	1	
	Síndrome Respiratório Bovino	2	
	Pneumonia ou reticulopericardite traumática	1	
	Determinação da concentração de anticorpos em colostro	10	
	Tumor nasal	1	
Reprodução e obstetrícia	Prolapso vaginal	1	
	Partos distócicos	14	
	Prolapso uterino	3	
	Exame ginecológico através de palpação transrectal	40	Bovina
	Diagnóstico de gestação através de ecografia	82	
	Retenção placentária	3	
	Metrite puerperal	3	
	Quistos ováricos através de ecografia	3	
	Prolapso uterino	1	Ovina
	Piometra	1	Canídea
Cirurgia	Cesariana	5	
	Histerectomia	1	Bovina
	Redução do prolapso uterino	2	
Sanidade	Vacinação e desparasitação	25	Bovina
	Tuberculinização	1	
	Vacinação e desparasitação	20	Caprina
	Vacinação, desparasitação e colheita de sangue	389	Ovina

3. Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa

Durante uma semana (de 12 a 17 de Novembro) a autora acompanhou o Prof. Dr. George Stilwell nas suas visitas a explorações leiteiras nos arredores de Lisboa e Santarém. Para além da prática de clínica geral, a autora também participou num workshop de patologia podal.

Tabela 3: Casuística das actividades desenvolvidas durante o estágio com o Prof. Dr. Stilwell.

Área de intervenção	Actividade	Nº de casos
Clínica	Atonia ruminal pós-parto	3
	Edema do úbere	4
	Pneumonias	17
	Queratoconjuntivite infecciosa bovina	2
	Patologia podal	Panarício interdigital Úlcera
		3 5
	Edema da laringe	1
	Higroma	7
	Mamite	10
	Descorna	5
Cirúrgia	Amputação da unha	2
	Tenectomia	2

A autora acompanhou ainda a actividade profissional do Doutor Chagas e Silva desde Novembro de 2011, no sentido de seguir o trabalho experimental. No entanto, a Tabela reflecte a casuística entre Outubro de 2012 e Junho de 2013. As várias explorações bovinas visitadas situavam-se principalmente nos arredores de Lisboa, na zona da Moita e Palmela. Pontualmente, o trabalho também incidiu na zona de Aveiro, Leiria, Montemor-o-Novo e Odemira. Na Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa também foram realizadas algumas actividades.

A autora acompanhou também o curso de IA em bovinos, onde praticou a técnica.

Tabela 4: Casuística das actividades desenvolvidas durante o estágio com o Doutor Nestor.

Área de intervenção	Actividade	Nº de casos
Cirúrgia	Redução hérnia umbilical	3
Reprodução e Obstetria	IA	35
	Diagnóstico de gestação	Ecográfico
		Palpação transrectal
	Exame ginecológico	Ecográfico
		Palpação transrectal
	Patologias reprodutivas	Quistos ováricos
		Endometrite
		Piometra
	Tratamento antibiótico intra-uterino	2
	Lavagem uterina para transferência de embriões	5
	Transferência de embriões	25
	Recolha de sêmen e congelação de doses seminais	1
	Exame andrológico	5

III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. GENERALIDADES SOBRE O MANEIO REPRODUTIVO EM BOVINOS DE CARNE

1.1 Sistemas de produção de bovinos

Há cerca de duas décadas que a criação de bovinos em países desenvolvidos tem-se direccionado no sentido da intensificação. No entanto, este tipo de produção tem encontrado oposição por parte do consumidor. Os consumidores e, a sociedade em geral, têm-se tornado cada vez mais críticos em relação à forma como os animais se mantêm nas explorações. O público exige, hoje em dia, uma muito maior garantia do bem-estar animal (Gordon, 1996a).

Em alguns países, especialmente nos trópicos, grande parte da produção de bovinos pode ser descrita como uma produção de aptidão múltipla, com vacas que são usadas para fornecer leite, carne, vestuário, fertilizantes e combustível. No entanto, por norma, a bovinicultura pode ser dividida em dois sectores: produção de carne ou de leite. Em grande parte dos países em vias de desenvolvimento, os animais são usados como fonte de carne e leite, tendo uma dupla aptidão. Por outro lado, em países como Austrália, Nova Zelândia, Estados Unidos da América, Canadá e Israel, as funções de produção de carne e leite foram individualizadas e existe melhoria genética selectiva direccionada para uma única aptidão (Ball & Peters, 2004a).

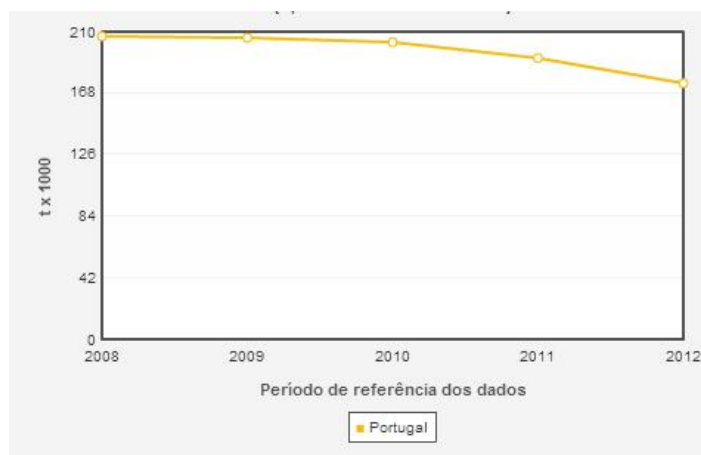
1.2 O sector da carne

Nos sistemas de produção de carne, o vitelo é geralmente amamentado pela progenitora durante os seus primeiros 6 meses de vida. Os sistemas de aleitamento podem ser únicos ou múltiplos, sendo que uma vaca pode amamentar *ad libitum* a sua cria, ou, pelo contrário, alimentar um ou mais vitelos supranumerários. Em termos de manejo, as vacadas têm geralmente épocas de parto sazonais. Após o desmame, os vitelos podem ser criados em variados sistemas, desde o extensivo em regime de pastoreio, até aos sistemas intensivos em *feedlot* (Ball e Peters, 2004a).

1.2.1 A nível nacional

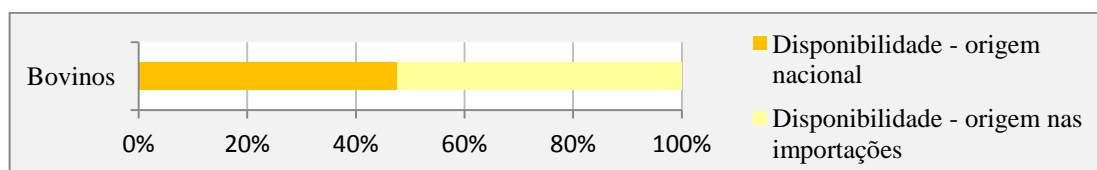
O consumo de carne de bovino em Portugal oscila com a variação do poder de compra, e tem vindo a revelar uma tendência para abrandar (Gráfico 1) (Laranjinha et al., 2013).

Gráfico 1: Consumo humano de carne de bovino em Portugal desde 2008 até 2013
(Instituto Nacional de Estatística [INE], 2014).



Ainda assim, trata-se de um tipo de carne em que Portugal não é auto-suficiente (Gráfico 2), importando em elevada quantidade (cerca de 52,3%) (Laranjinha et al., 2013; INE, 2014).

Gráfico 2: Disponibilidade diária de carne de bovino por origem, no ano de 2012
(adaptado de INE, 2014).



Numa exploração de bovinos de carne, o principal objectivo produtivo é a maximização do número de vitelos ao desmame, já que representa o produto final com maior expressão. Para que os objectivos produtivos possam ser atingidos torna-se imprescindível maximizar a eficácia reprodutiva, dado constituir a componente essencial para a produção de descendência. A avaliação e melhoria da eficácia reprodutiva de uma exploração implicam o estabelecimento de objectivos definidos e a implementação de medidas que permitam atingir essas mesmas metas (Romão & Bettencourt, 2009). No entanto, são muitas as explorações nacionais que apresentam reduzido ou nulo controlo da reprodução na vacada (Lopes da Costa, 2008).

O panorama pecuário nacional actual, que promove a extensificação, cada vez mais se ajusta aos interesses dos consumidores. Estes preferem animais criados em regime extensivo e, só em caso de necessidade, com alimentos concentrados à base de grãos de cereais (Rodrigues, 1998).

Na produção intensiva pretende obter-se, no mais curto espaço de tempo, um produto animal. São sistemas que têm necessariamente de se apoiar em melhores animais, que utilizam de forma mais eficiente alimentos mais caros e ricos em energia e proteína. Este tipo de

produção obriga a uma maior densidade animal por área disponível e é indispensável o recurso à utilização de concentrados comerciais e de forragens energéticas (Rodrigues, 1998). Para os tipos de produção semi-intensiva e extensiva também devem ser utilizados animais de elevado potencial de crescimento. No entanto, neste caso, o crescimento será mais lento como consequência do regime alimentar disponível, constituído preferencialmente por pastagens naturais ou semeadas e por forragens produzidas na própria exploração e que são utilizadas como suplemento em épocas de escassez de pastagens (Rodrigues, 1998).

1.3 Maneio da fertilidade da vacada

A gestão da fertilidade deverá ser sempre realizada em conjunção com acções na área da genética, nutrição e maneio, e enquadrada num programa mais vasto de gestão da sanidade e produção do efectivo (Lopes da Costa, Leitão Alegre & Gradil, 1990). Um bom desempenho reprodutivo é essencial para a eficiente gestão e produção como um todo, embora alvos específicos possam depender até certo ponto, das condições locais da exploração e dos objectivos individuais do produtor (Ball & Peters, 2004a).

A eficiência da produção é calculada com base nos *input* e *output*. A porção dos *output* numa unidade de produção de bovinos de carne é avaliada em função do número de vitelos desmamados por vaca e do peso deles ao desmame. Este último indicador pode ser manipulado através da genética, do ambiente ou da idade ao desmame. O número de vitelos desmamados por vacada é parcialmente determinado por várias características reprodutivas (puberdade, anestro, fertilidade) sendo as mesmas, afectadas, por sua vez, por variáveis genéticas e ambientais (Short et al., 1996). Embora os factores ambientais possam ser manipulados de várias formas, o genótipo do animal é determinado unicamente pelo património genético dos seus pais. Por esta razão, a reprodução desempenha um papel crucial na determinação do progresso genético dentro da exploração (Gordon, 2004a). Um bom maneio reprodutivo e progresso nesse campo começam por uma selecção e desenvolvimento adequados das novilhas e novilhos de substituição (Parish, Larson & Vann, 2010).

Igualmente, o registo do desempenho individual da fêmea e da cria é essencial para uma gestão adequada da fertilidade. Isto faz sobressair os animais que são mais férteis e rentáveis e que devem ficar e, os que devem ser refugados (Parish et al., 2010).

Através dos registos, podem calcular-se índices de fertilidade, que traduzem a eficiência reprodutiva do efectivo. Para estes, podem definir-se valores óptimos (Lopes da Costa et al., 1990). Alguns destes índices são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Principais índices reprodutivos numa vacada de carne.

Índice	Definição	Valores alvo	Observações	Fonte bibliográfica
Intervalo entre Partos (IEP)	Período de tempo entre partos sucessivos	365 dias		Vickers, 2010
Idade ao primeiro parto		24 meses		Atkins, Pohler & Smith, 2013
Fertilidade anual	Percentagem de fêmeas paridas relativamente às postas à cobrição em cada ano ou época reprodutiva	> 85%	Nulíparas	Neto, 1999
		> 78%	Primíparas	
		> 83%	Múltiparas	
Distribuição dos partos	Percentagem de fêmeas que parem em cada quinzena (ou mês) depois de decorridos 282 dias, após o início das cobrições	> 65 %	Nas primeiras 3 semanas	Vickers, 2010
		> 90%	Nas primeiras 9 semanas	
Taxa de abortos	Percentagem de fêmeas que abortam durante a época reprodutiva	< 4%	-	Neto, 1999
Taxa de refugo	Percentagem de fêmeas refugadas durante o ano reprodutivo	< 15%	-	Vickers, 2010
Taxa de mortalidade dos vitelos	Nados mortos durante a primeira semana, até ao desmame	< 3%	-	Vickers, 2010
Ganho médio diário dos vitelos	Aumento médio diário de peso entre o nascimento e o desmame	-	Valores alvo dependem da raça	Vickers, 2010

1.3.1 Idade ao primeiro parto

Quando o manejo alimentar é adequado, as novilhas atingem normalmente a puberdade entre os 9 e 12 meses e devem parir pela primeira vez com cerca de 24 meses de idade (Parish et al., 2010).

A puberdade, no caso da fêmea, é tipicamente definida como o momento em que a novilha exhibe dois valores de progesterona (P_4) acima de 1ng/mL (fase lútea), quando as amostras são colhidas com três a quatro dias de intervalo. Este registo indica a manutenção de um corpo lúteo (CL) viável entre o dia 5 e 15 do ciclo éstrico (Cammack, Thomas & Enns, 2009).

Segundo Gordon (2004g), a idade à puberdade é um dos principais determinantes do desempenho reprodutivo de um bovino de aptidão cárnica.

À medida que a puberdade se aproxima, os factores de crescimento insulínicos I e II (IGF-1 e IGF-2) vão estimulando a proliferação de pequenos folículos e a produção de insulina, que por sua vez, estimulará a produção de estradiol ao nível dos folículos que poderão potencialmente ovular. Enquanto isto, o eixo hipotálamo-hipofisário torna-se competente na libertação pulsátil da hormona luteinizante (LH) também necessária ao desenvolvimento folicular, maturação do ócito e para a ovulação (pico pré-ovulatório) (Ball & Peters, 2004b).

O hipotálamo é o último componente do eixo hipotálamo-hipofisário a desempenhar o seu papel reprodutivo na novilha pré-púbere. Se fornecido um estímulo adequado, as fêmeas juvenis tornam-se capazes de produzir gonadoliberina (GnRH) em quantidades adequadas para a libertação de gonadotrofinas e com isso promover a ovulação de um folículo e formação de tecido lúteo (Atkins et al., 2013).

Assim, o factor limitante para o início da puberdade é a ausência de uma elevada frequência pulsátil de GnRH e, em consequência, de LH. A relativa inactividade do eixo hipotálamo-hipofisário durante o período pré-púbere deve-se, em primeiro lugar, a um sistema de *feedback* negativo envolvendo o estradiol-17 β (E₂), o estrogénio do ponto de vista fisiológico mais relevante produzido pelos folículos ovários em desenvolvimento (Williams & Amstalden, 2010).

Com a produção de GnRH pelo hipotálamo, aumenta consequentemente a libertação de LH, levando ao desenvolvimento e maturação de um grande folículo produtor de estrogénio, o “interruptor”, que torna o *feedback* negativo em positivo, tanto ao nível do hipotálamo como da hipófise (Williams & Amstalden, 2010).

A idade em que as novilhas de reposição atingem a puberdade e, por consequência, aquela em que produzem a sua primeira cria, influencia a eficiência reprodutiva de uma vacada. Por conseguinte, novilhas que parem aos 2 anos de idade, pela primeira vez, produzem mais vitelos durante a sua vida, que aquelas que parem a primeira cria aos 3 anos de idade. No entanto, também foi demonstrado que é necessário um maior nível de investimento nutricional relativamente às primeiras (Burns, Fordyce & Holroyd, 2010).

Um dos principais factores que influencia o padrão de secreção de GnRH e igualmente, o desencadear do início da puberdade é a nutrição. Muitos estudos têm demonstrado que novilhas alimentadas com uma dieta mais rica em energia são susceptíveis de ter o primeiro cio mais cedo que aquelas alimentadas com uma dieta de baixa energia (Gordon, 2004g).

Para além da nutrição, a estação do ano também pode influenciar o início da puberdade (Ball & Peters, 2004b; Gordon 2004g). O fotoperíodo parece ter grande influência, apesar da temperatura (valores extremos) também poder estar envolvida (Ball & Peters, 2004b).

A raça tem igualmente influência na idade à puberdade (ver 3.4) (Ball & Peters, 2004b).

1.3.2 Intervalo entre partos (IEP)

Para optimização da produção, a meta geral é que cada vaca produza um vitelo vivo e sadio, a cada ano (Baruselli, 2007).

Deve referir-se que, muitas vezes, os produtores mencionam que as suas vacas produzem todos os anos, um vitelo. Mas o que, na maioria dos casos não esclarecem, é que o parto ocorre umas vezes em Junho e outras vezes em Novembro, ou seja, apesar de a vaca produzir

um vitelo em dois anos consecutivos, o intervalo entre os dois partos é superior aos 365 dias (Romão & Bettencourt, 2009).

O IEP pode ser dividido em dois componentes: o intervalo do parto à concepção e o período de gestação. O primeiro abrange o período desde o parto até ao estabelecimento de uma nova gestação e constitui o elemento condicionador do IEP, sendo o parâmetro mais manipulado para se alcançar um IEP desejável. O segundo componente é o resultado de um tempo médio de 285 dias, variando de acordo com a genética de ambos os progenitores. Este período só poderá ser reduzido ao induzir-se um parto prematuro (Costa et al., 2011).

Para se obter um IEP de 365 dias, o intervalo entre o parto e a concepção não deve ser superior a 80-85 dias (Costa et al., 2011).

1.3.2.1 Anestro pós-parto

O anestro pós-parto é outro importante componente do IEP (Ball & Peters, 2004a).

Define-se anestro como o estado de ausência de ciclicidade do ovário, reflectido pela completa inactividade sexual, sem manifestação de estro e ausência de ovulação, tudo isto, associado a uma concentração de progesterona sérica inferior a 0,5ng/mL. O anestro pós-parto é pois, o período após o parto durante o qual, as vacas não mostram sinais comportamentais de estro (Montiel & Ahuja, 2005).

Após o parto, o útero tem que retornar ao estado pré-gravídico (Abeygunawardena & Dematawewa, 2004). Este processo denomina-se involução uterina e requer aproximadamente 30 dias (Williams & Amstalden, 2010). O útero das vacas primíparas (vacas que só pariram uma vez) involui mais rapidamente que o das múltiparas (vacas que pariram mais que uma vez) e o efeito da amamentação parece ser positivo na resolução da involução (Ball & Peters, 2004b).

A par da involução uterina, a ciclicidade ovárica deve ser igualmente reiniciada, para se almejar uma nova concepção (Abeygunawardena & Dematawewa, 2004).

O anestro está associado à inactividade ovárica e, mesmo que exista algum desenvolvimento folicular, nenhum dos folículos que começam a crescer se torna maduro o suficiente para ovular (Montiel & Ahuja, 2005).

Os principais factores que podem influenciar a duração do anestro pós-parto de uma fêmea bovina de carne são a amamentação, a nutrição e a presença do touro (Gordon, 1996b). A temperatura, a humidade e cargas parasitárias elevadas também têm alguma influência (Abeygunawardena & Dematawewa, 2004).

1.3.2.1.1 Amamentação

Segundo Stagg, Spicer, Sreenan, Roche & Diskin (1998), a amamentação é o principal factor que afecta a duração do intervalo de anestro pós-parto, no caso das vacas aleitantes.

Durante a segunda ou terceira semana pós-parto, a libertação pulsátil de LH aumenta nas vacas de aptidão cárnica que não estão a amamentar e nas vacas leiteiras, resultando no desenvolvimento dos folículos ovários e na ovulação (Williams & Amstalden, 2010). Nesta fase, passa a existir um *feedback* positivo do E₂ sobre o hipotálamo (Williams, Gazal, Vega & Stanko, 1996). No entanto, a sucção e a presença da cria exercem um efeito inibitório através da sua influência na produção de E₂ (Gordon, 1996d) e através da produção hipotalâmica de um péptido opióide β -endorfina (Montiel & Ahuja, 2005).

A sucção inibe a síntese de estrogénio pelas células foliculares e reduz o *feedback* positivo sobre o eixo hipotálamo-hipofisário. Apesar do conteúdo de GnRH no hipotálamo não ser afectado na fase de amamentação, a sua concentração no sistema porta-hipofisário é suprimida pela sucção. Por esta razão, embora o conteúdo de LH da hipófise anterior esteja restabelecido nas 2 a 3 semanas pós-parto, a sua secreção continua a ser inferior ao necessário para o desenvolvimento dos folículos ovários (Gordon, 1996d).

O reinício da actividade ovária é adiado até que a frequência dos pulsos de LH aumente para os níveis registados durante o pró-estro (Gordon, 1996d). Para que isto aconteça, a progenitora tem de escapar aos efeitos da amamentação ou tem de ocorrer o desmame. Nessa altura, a frequência e amplitude dos pulsos de GnRH aumentam drasticamente, levando ao aumento da frequência pulsátil de LH e à actividade ovária cíclica (Williams & Amstalden, 2010).

Durante muito tempo, assumiu-se que a estimulação crónica do teto (sucção) era a causa primária para o anestro de lactação. No entanto, demonstrou-se que a estimulação do teto e do úbere não são indispensáveis para que haja uma supressão da secreção de LH. Nem a ordenha crónica ou a presença física do vitelo na ausência de sucção, têm efeitos mensuráveis no padrão pulsátil de libertação de LH (Williams & Amstalden, 2010). Do mesmo modo, a desinervação cirúrgica do úbere e a mastectomia não encurtou o anestro pós-parto quando as crias permaneciam com as suas progenitoras (Williams & Amstalden, 2010).

Sabe-se actualmente que a influência da amamentação na duração do período de anestro pós-parto é independente das vias neurosensoriais do teto e úbere e que a ligação mãe-filho é o componente essencial de um período pós-parto prolongado nas vacas de aptidão cárnica (Stagg et al., 1998). Griffith e Williams (1996) descobriram que a frequência da pulsatilidade de LH permanece inalterada (1,2 pulsos/5horas, típico de vacas anovulatórias) nas vacas que amamentam as suas próprias crias e têm capacidades visuais e olfactivas. Por outro lado, vacas com visão e olfacto intactos que amamentam vitelos alheios, vacas anósmicas e invisuais que amamentam as suas próprias crias ou vitelos alheios ou vacas submetidas ao desmame, mostraram aumento da frequência da pulsatilidade de LH (4,6 pulsos/5horas).

O efeito da amamentação na libertação tónica de LH é determinada pela capacidade de identificação do vitelo, como sendo ou não seu, por parte da mãe. A visão e o olfacto desempenham papéis importantes no desenvolvimento do vínculo mãe-filho permitindo à fêmea bovina identificar a sua própria cria. A abolição de ambos os sentidos atenuam o efeito negativo da amamentação sobre secreção de LH (Montiel & Ahuja, 2005).

O aleitamento parcial e restrito e o desmame precoce e temporário reduzem o anestro pós-parto e melhoram as taxas de gestação (Abeygunawardena & Dematawewa, 2004). Segundo o estudo de Stagg et al. (1998), restringir a sucção nas vacas aleitantes (a uma vez por dia) a partir do dia 30 pós-parto, com o isolamento das crias, longe da vista das mães, encurta significativamente o intervalo entre o parto e a primeira ovulação (51 dias) comparativamente a vacas controlo com sucção *ad libitum* (79 dias) (Crowe, 2008).

1.3.2.1.2 Nutrição

Os mecanismos através dos quais a nutrição pode, potencialmente, afectar a actividade reprodutiva de uma fêmea no pós-parto podem incluir a disponibilidade metabólica de substratos (aminoácidos, glucose) nos tecidos reprodutivos e/ou o perfil das hormonas metabólicas. No que diz respeito a este último mecanismo, a nutrição influencia o teor de IGF-1 em circulação, sendo esta uma hormona necessária ao desenvolvimento folicular e à ovulação. A insulina também é sensível à nutrição e tem um papel importante na utilização da glucose pelos tecidos somáticos maternos, incluindo tecidos reprodutivos. A leptina é igualmente modulada pela nutrição através do tecido adiposo e tem sido associada à função reprodutiva no geral e, mais especificamente, ao pós-parto da vaca (Samadi, Phillips, Blache, Martin & D'Occhio, 2013).

Além dos potenciais efeitos directos da insulina, glucose, IGF-1 e leptina na função ovárica, é provável que estes reguladores metabólicos influenciem a síntese e secreção de GnRH pelo hipotálamo. Foi demonstrada a presença de receptores de IGF-1 e de leptina (*kisspeptin*), nos neurónios que sintetizam GnRH, o que parece estabelecer uma possível ligação entre a nutrição, a leptina e a secreção de GnRH, já que a *kisspeptin* estimula a síntese e libertação deste péptido (Smith, Accohido, Clifton & Steiner, 2006, citados em Samadi et al., 2013).

Demonstrou-se igualmente que o nível nutricional no período anterior ao parto, reflectido na condição corporal (CC), é mais importante no condicionamento do anestro pós-parto, do que o proporcionado após o parto (Gordon, 1996d).

Samadi *et al.* (2013) estudaram dois grupos de vacas gestantes, em relação às concentrações plasmáticas de hormonas que podem estar associadas à duração do anestro pós-parto. As hormonas doseadas foram a insulina, a glucose, a IGF-1 e a leptina e foram feitas determinações a partir de uma semana após o parto. Um dos grupos foi mantido em pastagem

natural e o outro em pastagem melhorada a partir dos 6 ou 7 meses de gestação. Com esta estratégia, estabeleceram-se diferenças na CC no pós-parto, com o grupo mantido em pastagem melhorada a revelar melhor CC. Esta diferença foi associada a uma mais elevada concentração plasmática das hormonas em estudo, uma semana após o pós-parto, nas vacas mantidas nessa pastagem melhorada. Apesar do tamanho do folículo pré-ovulatório não ter diferido nos dois grupos, a ovulação ocorreu mais cedo, no grupo beneficiado nutricionalmente. Este achado indica que a nutrição não limita a capacidade de crescimento do folículo, mas afecta a ovulação. É possível que o folículo dominante (FD) nas vacas com menor CC não disponha de receptores de LH adequados e, por isso, não produza as quantidades de estradiol necessárias para induzir o pico pré-ovulatório de LH.

1.3.2.1.3 Bioestimulação através da presença do touro

Vários estudos demonstraram que a duração do anestro pós-parto pode diminuir significativamente através da exposição das vacas ao touro (Gordon, 1996b). Assim, vacas expostas à influência de feromonas (machos inteiros ou fêmeas androgenizadas), retornam mais cedo ao estro que fêmeas não estimuladas (Gordon, 2004e). Por sua vez, Miller & Ungerfeld (2008) comprovaram que a troca semanal do touro é mais vantajosa, uma vez que o cio é ainda mais precoce nas fêmeas sujeitas a esta estratégia.

Fike et al. (1996) verificaram que esta bioestimulação também afecta as fêmeas separadas do macho por uma cerca, apesar de, neste caso, só responderem as primíparas. Estas fêmeas têm geralmente um período de anestro pós-parto mais prolongado que as múltiparas. Por isso, este modelo pode ser vantajoso, ao promover o retorno à ciclicidade sexual, mais precocemente.

Sabe-se também que existe uma relação de proporcionalidade directa entre o intervalo parto-reinício da actividade ovárica e a duração da exposição ao touro (Tauck, Olsen, Wilkinson & Berardinelli, 2010).

1.3.3 Sistemas de manejo reprodutivo

Antes da domesticação, os bovinos tinham provavelmente épocas de reprodução. Os partos eram pois, determinados pela disponibilidade de pastagem. Na maioria das situações, a época reprodutiva iniciava-se no Verão, para que as crias nascessem na Primavera seguinte, quando se esperava abundância de pasto fresco. Desta forma, a produção de leite pela vaca seria máxima, para garantir a amamentação da cria recém-nascida (Ball & Peters, 2004a).

Nos actuais sistemas de produção, as épocas de reprodução e, conseqüentemente, dos partos, podem ocorrer durante todo o ano, ou podem ser restritas a um período previamente determinado do ano. Quando se trabalha com épocas de reprodução restritas, a prática comum é existir uma temporada de partos, embora alguns produtores façam uso de duas temporadas

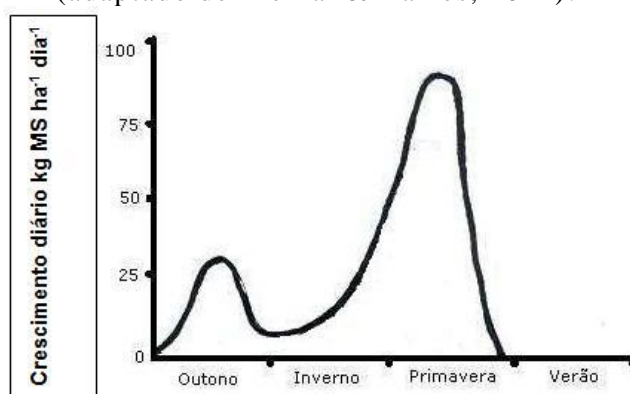
por ano, permitindo às vacas que não ficaram gestantes numa época de cobrição, o ficarem na seguinte (Johnson & Funston, 2013).

O estabelecimento de épocas de reprodução definidas, de modo a ajustar as melhores disponibilidades alimentares aos períodos críticos do ciclo reprodutivo das fêmeas é provavelmente o passo mais relevante para a obtenção de uma boa eficiência reprodutiva (Lopes da Costa, 2008).

1.3.3.1 Épocas reprodutivas e produção de pastagens

Sendo as pastagens e forragens, a base da alimentação dos ruminantes (Freixal & Barros, 2012) e, como a nutrição inadequada em termos energéticos e/ou proteicos reduz as taxas de gestação, as taxas de concepção ao primeiro serviço e ainda, alonga os intervalos de anestro pós-parto das fêmeas (Randel, 1990), é necessário fazer coincidir as disponibilidades alimentares com os períodos críticos do ciclo reprodutivo das fêmeas (Lopes da Costa, 2008). Em condições de sequeiro mediterrânico, a produção de pastagens encontra-se irregularmente distribuída ao longo do ano, como mostra o Gráfico 3.

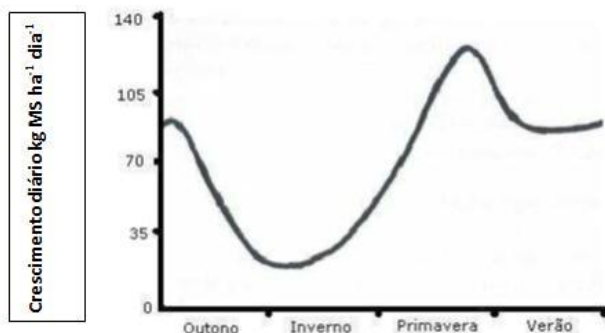
Gráfico 3: Curva de produção de pastagens em condições de sequeiro mediterrânico (adaptado de Freixal & Barros, 2012).



Quando as explorações agropecuárias nas condições mediterrânicas dispõem de água para rega, podem incluir nas suas áreas, pastagens ou prados permanentes de regadio (Gráfico 4).

O recurso à instalação de pastagens de regadio permite melhorar consideravelmente a oferta alimentar, não só por uma maior quantidade absoluta produzida, mas também por uma melhor distribuição dessa produção ao longo do ano, como por exemplo no período do Verão, garantindo ainda, com segurança, a produção de Outono que deixa assim de estar condicionada pela necessidade de ocorrência precoce de precipitação, como obrigatoriamente acontece nas condições de sequeiro (Freixal & Barros, 2012).

Gráfico 4: Curva de produção de pastagens em condições de regadio mediterrânico (adaptado de Freixal & Barros, 2012).



Como foi anteriormente referido e especificado por Randel (1990), na vaca aleitante, a CC no momento do parto é o principal determinante da duração do anestro pós-parto. Aquele investigador verificou que, quando não existe perda de peso corporal no período final da gestação (período pré-parto), cerca de 91% das múltiparas e 64% das primíparas, entram em estro cerca de 60 dias após o parto.

Quando a vaca tem uma CC razoável ao parto, o nível de alimentação subsequente tem apenas um pequeno efeito no anestro pós-parto (Gordon, 1996d). Fêmeas com fraca condição CC ao parto têm crias menos pesadas ao nascimento, um intervalo de anestro pós-parto mais longo e fertilidade mais baixa na época reprodutiva seguinte (Larson & Tyler, 2005).

No período pós-parto, as necessidades de energia e proteína são superiores às da fêmea no final de gestação, sendo difícil melhorar a condição corporal nesta fase, uma vez que teve início a lactação (Larson & Tyler, 2005).

O produtor deve ter sempre um plano diferente para as novilhas. Estas devem parir 2 ou mais semanas mais cedo que as vacas. Limitar a época de cobrições e, por isso, a época de nascimentos, a 45 dias ou menos também oferece algumas vantagens. Do ponto de vista de manejo, uma época de parições antecipada e curta das novilhas, previne a sobreposição entre a mão-de-obra necessária para monitorizar e assistir os partos destas fêmeas e os das vacas. Para além disto, o intervalo de tempo entre o parto e o reinício do ciclo ovário é mais longo nas novilhas. Logo, se as novilhas parirem antes das vacas têm um tempo extra para retorno ao estro e à ciclicidade, fazendo com que tenham uma maior possibilidade de estarem cíclicas no início época de reprodução seguinte (Larson & Tyler, 2005).

Em Portugal existem três esquemas principais de cobrições: os touros podem permanecer com as vacas todo o ano; podem permanecer na vacada por um período de cerca de 6-7 meses ou podem permanecer na vacada durante 3-4 meses. Em sistemas reprodutivos melhorados podem estabelecer-se períodos de cobrição de apenas 2 meses (Romão & Bettencourt, 2009).

A duração das épocas de cobrição está estritamente relacionada com a duração da época de partos (Morrel, 2011). Épocas de cobrição e de parto longas perpetuam baixa eficiência

produtiva por várias razões: no desmame, os vitelos que nasceram tardiamente são menos pesados que as crias das vacas que pariram cedo; o produtor tem um menor controlo de factores como a nutrição, perdas durante o parto, de doenças do peri-parto até ao desmame e torna-se impossível o planeamento de intervenções sanitárias no período ideal do ciclo reprodutivo, bem como a introdução de tecnologias reprodutivas; e por fim, existe uma maior probabilidade de cada vaca ter um maior IEP, quanto mais longa for a época de cobrição (Wiltbank, 1970; Lopes da Costa, 2008).

As épocas de cobrição podem ser designadas de épocas de inseminação, quando há recurso a IA (Morrel, 2011). A IA normalmente não dispensa a monta natural, já que o touro é levado para perto das vacas 2 a 3 semanas após a inseminação, para que as fêmeas com retorno do cio tenham oportunidade de ficar gestantes (Gordon, 1996a).

1.3.3.2 Condição corporal (CC) e ciclo reprodutivo

O estado nutricional é o determinante primário do potencial reprodutivo. Os meios mais eficazes para avaliar o estado nutricional de um animal são o peso e a CC (Short et al., 1996). Esta última define o estado nutricional do animal através da avaliação visual e/ou táctil, e é mais precisa na estimativa das reservas naturais do que o peso corporal, já que a análise deste é independente do tamanho e do estado fisiológico do animal (Costa et al., 2011).

É importante compreender a estratégia geral de uma vaca na repartição dos nutrientes (energia) para as diversas funções corporais (Short & Adams, 1998). Estes autores, propuseram a seguinte ordem de utilização da energia: 1. metabolismo basal; 2. actividades mecânicas; 3. crescimento; 4. conjunto de reservas corporais básicas de energia; 5. manutenção da gestação; 6. lactação; 7. reservas extra de energia; 8. ciclo éstrico, ovulação e gestação precoce; 9. excesso de reservas. Portanto, a reprodução, em termos de repartição de energia, não é uma prioridade para o animal (Costa et al., 2011).

As vacas são geralmente pontuadas numa escala de 1 a 5, em que 1 significa muito magro e 5, muito gordo (Tabela 6).

Tabela 6: CC na escala de 1 a 5 (adaptado de Machado, Corrêa, Barbosa & Bergamaschi, 2008).

Pontuação		Avaliação
1	Caquético ou emaciado	As apófises transversas e as espinhosas estão proeminentes e visíveis. Há total visibilidade das costelas, a cauda está totalmente incluída dentro do coxal e os fêlos e os ísquios mostram-se expostos. Há atrofia muscular pronunciada e é como se houvesse a visão directa do esqueleto do animal.
2	Magro	Os ossos estão bastante salientes, com certa proeminência das apófises espinhosas, dos fêlos e dos ísquios. As costelas têm pouca cobertura, as apófises transversas permanecem visíveis e a cauda está menos incluída nos coxais (aparência mais alta). A pele está firmemente aderida ao corpo (pele esticada).

Tabela 6 (continuação): CC na escala de 1 a 5 (adaptado de Machado, Corrêa, Barbosa & Bergamaschi, 2008)

Pontuação		Avaliação
3	Médio	Há uma suave cobertura muscular com grupos de músculos à vista. As apófises espinhosas estão pouco visíveis; as costelas, quase cobertas; e as apófises transversas, pouco aparentes. Ainda não há camadas de gordura; a superfície do corpo está macia e a pele está flexível (pode ser levantada com facilidade).
4	Gordo	Há boa cobertura muscular, com alguma deposição de gordura na inserção da cauda. As costelas e as apófises transversas estão completamente cobertas. As regiões individuais do corpo ainda são bem definidas, embora as partes angulares do esqueleto pareçam menos identificáveis.
5	Muito gordo	Todos os ângulos do corpo estão cobertos, incluindo as partes salientes do esqueleto, onde aparecem camadas de gordura (base da cauda e maçã do peito). As partes individuais do corpo ficam mais difíceis de ser distinguidas e o animal tem aparência arredondada.

A palpação das vértebras lombares, das tuberosidades ilíacas e das tuberosidades isquiáticas (base da cauda) (Figura 1) fornece uma avaliação da adiposidade do animal (Gordon, 2004c).

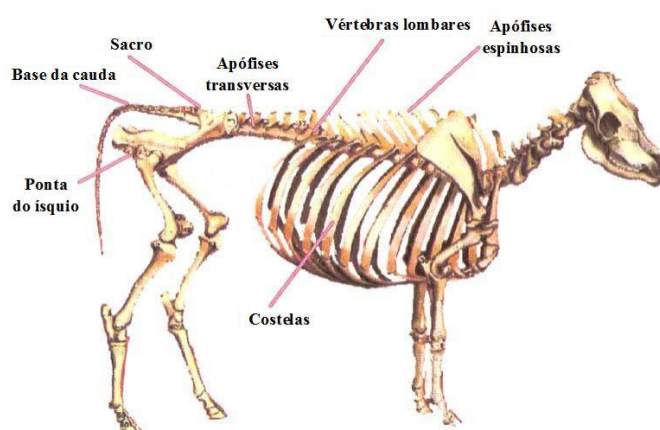


Figura 1: Marcos anatômicos para avaliação da condição corporal (adaptado de Machado et al., 2008).

Para além desta escala existe outra, muito utilizada nos Estados Unidos da América em bovinos de carne. Esta última tem 9 pontos, em que o 1 corresponde ao animal emaciado e o 9 ao animal obeso (Gordon, 1996b).

A determinação da CC é um guia útil para se avaliar as necessidades nutricionais de uma fêmea bovina aleitante. Se a vaca estiver a ingerir pouca comida para produzir o leite necessário para a cria, ela estará em balanço energético negativo, mobilizando tanto quanto possível as suas reservas corporais energéticas e, por isso, emagrecendo. Se, pelo contrário, a fonte de alimentação é energeticamente superior às exigências para a produção de leite, a fêmea engordará (Gordon, 1996b).

Em determinadas fases do ciclo reprodutivo, o pastoreio pode não ser suficiente para cobrir as necessidades nutricionais, podendo-se então recorrer a suplementações, como referido anteriormente (Short et al., 1996). Em todos os sistemas de produção de bovinos de carne, a redução dos custos da alimentação cara durante as épocas de escassez de pastagem é alcançada devido à utilização das reservas corporais do animal. A CC é pois, um método

simples para avaliar como suplementar as necessidades das fêmeas nesta altura, sem que sua performance seja afectada. O uso controlado das reservas corporais do animal durante períodos de escassez alimentar significa que tais reservas são substituídas durante as épocas em que existem formas de energia (alimentação) barata, sob a forma de pastagem eficientemente pastoreada (Gordon, 1996b).

A determinação da CC média da vacada em momentos críticos é de grande relevância e deve ser realizada no início da época de partos (mínimo 3,0 – 3,5 na escala de 1 a 5) e da época de reprodução (mínimo 2,75 – 3,25 na escala de 1 a 5). Esta avaliação pode influenciar a tomada de decisão relativa à duração da época de reprodução e à introdução de uma suplementação para as fêmeas com baixa condição corporal, que tenderiam a atrasar a concepção ou a ficar alfeiras. Após a época de cobrições uma nova determinação permite avaliar a evolução da CC e averiguar se é necessária a introdução de uma suplementação alimentar que proporcione uma boa CC no início da época de partos subsequente (Lopes da Costa, 2008).

1.3.4 Exame ginecológico das fêmeas

Numa vacada, todas as fêmeas em idade reprodutiva devem ser submetidas ao exame ginecológico para a selecção de animais aptos para a reprodução (Morrel, 2011). Segundo Lopes da Costa (2008), o exame ginecológico deve ser feito a todas as novilhas a serem postas à cobrição e, no caso das vacas, a uma amostra representativa (10 a 20%), antes do início da época de cobrição.

O exame reprodutivo de rotina baseia-se na análise da história pregressa e registos, exame geral e avaliação da CC e exame especial do tracto reprodutivo (Lopes da Costa et al., 1990). Este envolve uma avaliação completa dos componentes genitais internos e externos, com destaque para os ovários (Costa et al., 2011).

O exame interno faz-se através de palpação transrectal, ecografia e vaginoscopia e pode ser complementado através de laparoscopia e biópsia (Costa et al., 2011).

Através da palpação transrectal e/ou ecografia é possível avaliar a forma, diâmetro e consistência do cérvix e do útero, identificar estruturas ováricas (folículos ováricos, CL ou quistos), sinais positivos de gestação, lesões e acumulação de fluidos intrauterinos (Lopes da Costa et al., 1990; Costa et al., 2011). O grau de fidelidade do diagnóstico por palpação transrectal depende da destreza do operador e do tipo de diagnóstico (Lopes da Costa et al., 1990).

A Figura 2 ilustra as mudanças estruturais nos ovários e as concentrações hormonais ao longo de um ciclo éstrico com três ondas de crescimento folicular.

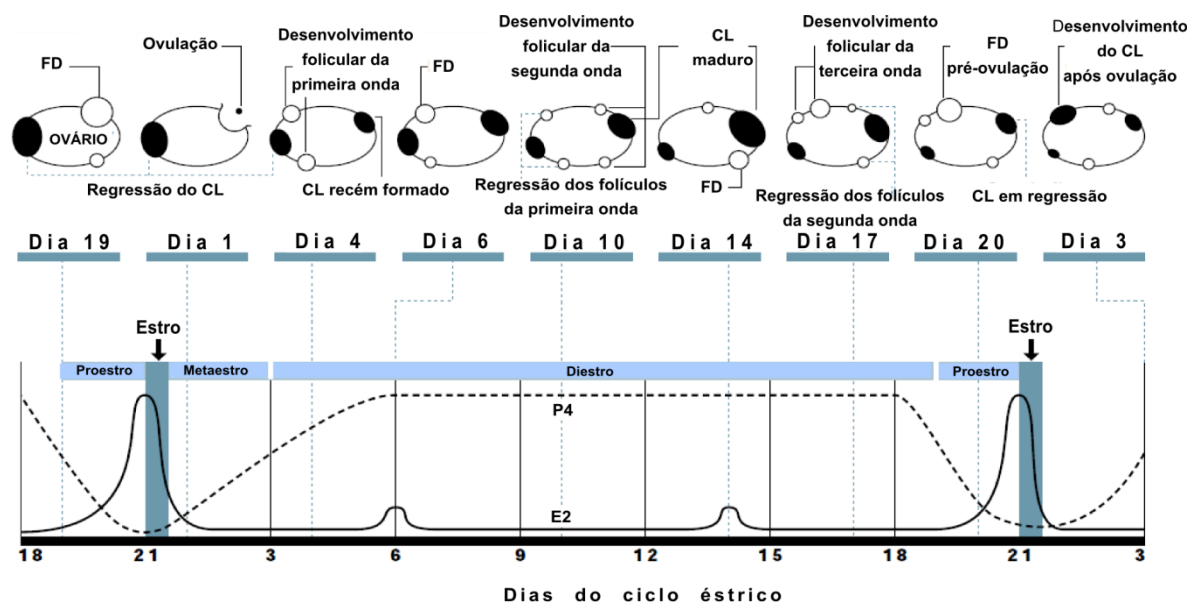


Figura 2: Alteração das estruturas ovárias e das concentrações hormonais ao longo de um ciclo estral (adaptado de O'Connor, 1993).

As fases do ciclo estral, tal como os componentes hormonais associados a cada fase serão abordados mais adiante, no capítulo 2.

A vaginoscopia complementa a palpação transrectal e a ecografia, uma vez que permite pesquisar a cor da mucosa vaginal, o grau de humidade, a presença de hemorragias, lacerações, lesões necróticas e a forma, coloração e abertura do orifício cervical posterior (Lopes da Costa et al., 1990; Costa et al., 2011).

Durante a fase estrogénica (pró-estro e estro), a mucosa da vagina tem uma coloração mais rosada, apresentando-se edematosa e húmida à inspeção. O orifício cervical posterior encontra-se aberto, edematoso, dando passagem a muco cervical. Na fase progesterónica (metaestro e diestro), a mucosa vaginal fica menos rosada (rosa pálido) e seca e, o orifício cervical externo encontra-se encerrado, não havendo presença de muco cervical (Lopes da Costa et al., 1990).

O tipo de corrimento vaginal é um elemento importante na determinação da fase do ciclo em que a fêmea se encontra ou no diagnóstico de certas patologias. Durante o estro, há presença de muco cervical límpido, transparente e filante. No pró-estro, o corrimento é menos abundante e filante. No metaestro, o muco torna-se novamente menos filante e, por vezes, hemorrágico, podendo persistir por alguns dias. A presença de pús ou corrimentos opacos fétidos são sinais de infecção cervical e/ou uterina. A presença de pús com corrimento cervical límpido indica vaginite (Lopes da Costa et al., 1990).

É crucial que no final do exame ginecológico, os animais sejam classificados, segundo o estado reprodutivo em gestantes ou não gestantes. Estes últimos devem ser divididos em normais ou com problemas reprodutivos individuais ou, por outro lado, com problemas

reprodutivos resultantes de mau manejo. A identificação dos problemas reprodutivos pode ajudar a manter ou melhorar a eficiência reprodutiva (Costa et al., 2011).

1.3.5 Exame andrológico dos machos

Mesmo sabendo que a fertilidade de um macho pode ser mais importante que a de uma fêmea, como consequência da proporção de fêmeas servidas por um mesmo touro, seja num regime de cobrição ou através de IA, o que se regista entre os criadores é que a ênfase na selecção de características de crescimento e de caracterização racial tem, muitas vezes, sido colocada acima da atenção que deve ser dada ao desempenho reprodutivo dos touros (Campos et al., 2005).

Embora a principal aplicação desta metodologia seja a valorização de touros antes de iniciarem a vida reprodutiva (15 meses), também é utilizada para o diagnóstico de problemas de fertilidade, para a certificação da aptidão reprodutiva em operações de compra e venda e, ainda como estratégia para avaliação anual de touros antes de iniciarem o seu período reprodutivo (Paloma, 2013).

Pode definir-se como sendo fértil, se um touro conseguir deixar gestantes (diagnóstico de gestação aos 42 dias) através de cobrição, pelo menos 60 % e 90% de 50 fêmeas cíclicas e saudáveis em 3 e 9 semanas, respectivamente (Fordyce et al., 2006).

O principal objectivo de uma avaliação reprodutiva dos touros para monta natural é a identificação dos machos subférteis e a sua exclusão como reprodutores. Estima-se que 20 % dos touros utilizados em sistemas de cobrição o sejam, resultando em taxas de gestação inferiores aos valores óptimos (Paloma, 2013). Os machos estéreis (com incapacidade reprodutiva permanente) não são comuns e são relativamente fáceis de identificar, ao contrário dos animais com baixa fertilidade, que originam maiores perdas económicas (Durão, 1994; Spitzer, Hopkins & Chenoweth, 2011).

Os touros subférteis são aqueles que conseguem obter gestações através da cobrição, mas não chegam a atingir as taxas, que os férteis registam, quando têm oportunidade. Os reprodutores que não conseguem produzir gestações por cobrição, mas revelam sémen viável para IA, também são considerados subférteis. Touros inférteis são pois, aqueles que não conseguem alcançar gestações (Fordyce et al., 2006).

O exame andrológico é conduzido por cinco etapas: 1. História pregressa do animal e da exploração; 2. Exame físico do estado geral; 3. Exame minucioso do sistema reprodutor 4. Recolha e avaliação de uma amostra de sémen; 5. Avaliação da libido (Spitzer, 2000).

O exame físico consiste numa avaliação geral da saúde, bem estar e CC de todos os touros. Qualquer problema físico pode, potencialmente, reduzir a fertilidade sob circunstâncias naturais de cobrição, embora alguns sejam mais importantes que outros (Spitzer et al., 2011).

Deve prestar-se especial atenção ao sistema locomotor, pois alterações que comprometem o bem-estar animal reduzem a libido e a capacidade de serviço (Campos et al., 2005). Adicionalmente, os touros necessitam da visão, da capacidade de ingestão e do olfacto. Qualquer problema num destes sistemas, pode ser razão suficiente para um exame andrológico questionável (Spitzer et al., 2011).

O exame do aparelho reprodutor masculino segue-se ao exame físico geral. As glândulas sexuais anexas podem ser avaliadas por palpação transrectal, enquanto o cordão espermático, o escroto, os testículos e os epidídimos podem ser palpados externamente (Tabela 7). O pénis e o prepúcio são geralmente examinados durante a recolha de sémen (Spitzer et al., 2011).

Tabela 7: Exame e algumas patologias associadas a cada órgão do sistema reprodutor do touro (Campos et al., 2005; Anónimo, 2013).

Órgão sexual		Exame	Alguns problemas reprodutivos
Palpação externa			
Pénis	Palpado manualmente e observado no decurso da colheita de sémen.		Desvios do pénis (ex.: pénis em forma de saca-rolhas); Balanite; Persistência do frénulo; Papilomatose.
Prepúcio	Verifica-se a abertura do orifício prepucial, a mucosa livre, a presença de aderências, fibrose, inflamações.		Fimose; Postite; Lacerações
Escroto e Testículos	Observação quanto à simetria, conformação, mobilidade e alterações patológicas; Os testículos são avaliados quanto à posição, simetria, mobilidade dentro do escroto, consistência (fibroelástica), forma, tamanho, sensibilidade e temperatura.		Orquite; Hidrocelo; Hérnia; Dermatite; Hipoplasia testicular; Hipertrofia testicular; Criptorquidia.
Epidídimo	Palpar e observar alterações de tamanho, simetria, forma, consistência (fibroelástica, com cauda mole), sensibilidade, temperatura e possíveis deformações da cabeça, corpo e cauda.		Epididimite; Espermatocele; Tumores; Abscessos; Aplasia segmentar e/ou hipoplasia.
Cordão espermático	Deve ser palpável do pólo dorsal do testículo até ao anel inguinal inferior. Determinar a espessura, simetria, consistência (fibroelástica), mobilidade, temperatura e sensibilidade.		Hérnia inguinal; Inflamação; Espermioestase; Abscessos.
Glândulas vesiculares	Têm geralmente uma forma alongada e irregular, superfície lobulada e bordos arredondados; Podem obter-se dados acerca do tamanho, simetria (uma leve assimetria pode ser normal), consistência (varia de fibroelástica a mole), superfície (lobulada), mobilidade e sensibilidade.		Espermatocistite; Hipertrofia; Hipoplasia; Aplasia uni ou bilateral.
Ampolas do ducto deferente	Avalia-se o tamanho (depende da idade), simetria, consistência (fibroelástica), mobilidade (móveis), superfície (lisa) e sensibilidade.		Hipoplasia; Aplasia.

Tabela 7 (continuação): Exame e algumas patologias associadas a cada órgão do sistema reprodutor do touro (Campos et al., 2005; Anónimo, 2013).

Órgão sexual	Exame	Alguns problemas reprodutivos
Palpação transrectal		
Próstata	Tem um corpo palpável sobre a uretra, caudal às glândulas vesiculares. Avalia-se o tamanho, consistência (fibroelástica), superfície (lisa) e sensibilidade.	Prostatite; Quistos; Abscessos.
Não palpável		
Glândulas bulbouretrais	Localizadas numa posição caudodorsal da uretra pélvica, são cobertas pelo músculo bulboesponjoso.	Inflamação

Após a palpação testicular, deve medir-se a circunferência escrotal (CE). Esta é medida com uma fita métrica, circundando a área de maior circunferência dos dois testículos. A CE tem uma heritabilidade média-alta, correlacionando-se positivamente com a produção e qualidade do sémen. Adicionalmente, verificou-se que touros com maior CE atingem a puberdade mais cedo, transmitindo esta característica aos descendentes de ambos os sexos. A CE também é positivamente afectada pelo aporte nutricional do vitelo durante os primeiros 2 a 6 meses de vida (Paloma, 2013).

Apesar do valor da CE variar com a raça e a idade, existem mínimos recomendados. A Tabela 8 estabelece esses limites para touros de todas as raças. É dado ênfase ao período púbere, até aos 2 anos de idade (maturidade sexual), já que é durante este período que são realizadas a maior parte dos exames andrológicos.

Tabela 8: CE mínima recomendada (adaptado de Spitzer et al., 2011).

Idade (em meses)	CE (em cm)
≤15	30
Entre os 15 e os 18	31
Entre os 18 e os 21	32
Entre os 21 e os 24	33
> 24	34

Após a palpação de cada órgão do aparelho reprodutor, é feita a colheita do sémen. Um dos métodos mais utilizados para a avaliação de reprodutores que se encontram no campo é a electroejaculação e a colheita de sémen pode ser feita numa manga de contenção. É baseada na aplicação rítmica de estímulos eléctricos via transrectal, estimulando o sistema nervoso autónomo e somático, levando à obtenção de secreções das glândulas anexas e finalmente do ejaculado (Anónimo, 2013).

Após a colheita, é feito o espermograma (análise dos componentes do sémen: espermatozóides e líquido seminal). Para isto, faz-se uma análise macroscópica e, seguidamente, uma microscópica (Anónimo, 2013).

A análise física (macroscópica) deve registar o volume, a cor, densidade, pH, presença de corpos estranhos (Tabela 9) (Anónimo, 2013).

Tabela 9: Parâmetros de análise macroscópica de sémen (Durão, 1994; Verberckmoes, Van Soom & de Kruif, 2004; Anónimo, 2013).

Parâmetro	Normal	Observações
Volume	≥ 2 mL	Varia com a idade, o tamanho, a raça, o método de colheita, a época do ano, o regime alimentar, o grau de excitação sexual anterior à colheita e a frequência de colheitas a que o animal é submetido.
Cor	Branco marfim	O sémen pode estar contaminado com urina, sangue, pús ou sujidade, alterando a sua cor.
Densidade	Leitoso	Existe uma correlação positiva entre a densidade e a concentração de espermatozóides (spz).
pH	6,4 a 6,6	
Corpos estranhos	Livre de corpos estranhos	

Microscopicamente (Tabela 10), avalia-se a mobilidade massal, a mobilidade individual, a morfologia espermática, a coloração supravital, a concentração espermática e a presença de células como leucócitos e eritrócitos (Anónimo, 2013).

Tabela 10: Parâmetros de análise microscópica do sémen (Chagas e Silva, 1985; Verberckmoes et al., 2004; Campos et al., 2005; Spitzer et al., 2011; Anónimo, 2013; Paloma, 2013).

Parâmetro	Aceitável	Observações
Mobilidade massal	Oscilação geral	Observa-se com ampliação de 100 vezes.
Mobilidade individual	30% dos spz com movimentos progressivos rectilíneos.*	Observa-se com ampliação de 400 vezes.
Morfologia dos espermatozóides	Pelo menos 70% dos spz deve ter morfologia normal.*	As anomalias morfológicas podem ser classificadas em: <ol style="list-style-type: none"> 1. Primárias: aquelas que se originam no testículo, durante a espermatogénese; 2. Secundárias: ocorrem no epidídimo; 3. Terciárias: originadas devido à secreção das glândulas anexas ou após a ejaculação.
Contagem dos espermatozóides	≥ 600 x 10 ⁶ spz/mL	Utiliza-se a câmara de Neubauer ou câmara de Thoma. A concentração expressa-se em spz/mL.

*valores aceitáveis de acordo com a *Society for Theriogenology*.

Nos touros, a temperatura testicular deve ser 2 a 6 graus Celsius (°C) mais baixa que a temperatura corporal, para que exista a produção de spz normais (Kastelic, Cook & Coulter, 2000). Por esta razão, desde que é colhido até ser analisado, o sémen e tudo o que com ele venha a contactar, deve ser mantido a 37°C (Paloma, 2013).

Idealmente, o comportamento sexual também deve ser avaliado, uma vez que um touro possuindo ejaculado de elevada qualidade e aprovado no exame andrológico, se não detectar as fêmeas em cio ou não manifestar interesse pelas vacas e não for capaz de as cobrir ou de realizar uma cópula completa, não vai originar descendência. Apesar de existirem testes bem

definidos, que permitem uma avaliação objectiva da libido, estes não são realizados com regularidade, não só pela sua morosidade, mas também por exigirem sistemas de manejo pouco comuns. No entanto, o produtor, na sua rotina diária, deverá perder algum tempo a avaliar este comportamento no animal (Germano & Jorge, 2011).

1.3.6 Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação preciso é de crucial importância no estabelecimento e manutenção de um programa de controlo reprodutivo. É desejável para o produtor saber logo que possível se uma vaca que foi coberta não está gestante, para que ela possa ser beneficiada com um mínimo de atraso. Até há razoavelmente pouco tempo, o diagnóstico de gestação consistia na observação do estro, cerca de 21 dias após o serviço. Dado que a eficiência e precisão da detecção do estro são baixas na maioria das vacadas, o uso deste método resulta, muitas vezes, em grande número de fêmeas não gestantes que são assumidas como gestantes e algumas gestantes que são inadequadamente inseminadas, podendo resultar em aborto. Por outro lado, muitas vacas que são vendidas como estéreis, no momento do abate, revelam-se gestantes (Ball & Peters, 2004a).

Calcula-se que 15 a 25% das fêmeas que não exibem comportamento de cio, 3 semanas após a inseminação, não estão gestantes (Gordon, 1996b).

Para além da detecção de cios, existem outros métodos que permitem o diagnóstico da gestação. Alguns deles são descritos na Tabela 11.

Tabela 11: Alguns métodos para diagnóstico de gestação em bovinos (adaptado de Ball & Peters, 2004c, Gordon, 2004c).

Método de diagnóstico de gestação	Estádio da gestação	Observações	Vantagens	Desvantagens
Palpação transrectal	18 a 24 dias	Presença de um CL (gravídico)	Alta precisão	Possíveis danos à vaca ou ao conceito; Difícil distinguir entre CL gravídico ou CL espúrio; Outras condições podem provocar assimetria dos cornos uterinos.
	30 a 65 dias	Palpação da vesícula amniótica		
	35 a 90 dias	Assimetria dos cornos uterinos		
	35 a 90 dias	Palpação do alanto-córion (membrana deslizante)		
	A partir do dia 70	Palpação dos placentomas e do feto		
	A partir do dia 90	Frémio na artéria uterina ipsilateral ao corno uterino gravídico		
	A partir do dia 180	Frémio na artéria uterina ipsilateral ao corno uterino não gravídico		

Tabela 11 (continuação): Alguns métodos para diagnóstico de gestação em bovinos (adaptado de Ball & Peters, 2004c; Gordon, 2004c).

Método de diagnóstico de gestação	Estádio da gestação	Observações	Vantagens	Desvantagens
Ecografia transrectal	A partir do dia 28	Em alguns casos, já é possível um diagnóstico a partir dos 17 dias de gestação	Maior precisão; Mais precoce que os outros métodos; Detecta problemas gestacionais	Custos do equipamento.
Doseamento de P₄	22 a 26 dias	Em vacas gestantes, a concentração de progesterona continua elevada entre dia 22 e 26, devido à presença do CL gravídico. Em vacas não gestantes, a progesterona tem concentrações mais baixas, desde dia 17 do ciclo.	Diagnóstico precoce de não gestação	Falsos positivos (ex.: infecção uterina; vaca inseminada durante o diestro) Perdas embrionárias tardias; Nos bovinos de carne requer amostras de sangue.
Glicoproteína associada à gestação bovina (bPAG) e proteína B específica da gestação bovina (bPSPB)	A partir das 4 semanas.	Com base em moléculas ditas factores de gestação precoce, produzidas pelas camadas mais superficiais do trofoblasto.	Diagnóstico relativamente precoce.	Muitas vezes requer amostras de sangue; Pode ser positivo depois de perdas.
Sulfato de estrona	A partir das 15 semanas.	Estrogénio é produzido pelo concepto e a concentração de sulfato de estrona eleva-se a no plasma materno a partir do dia 70, aproximadamente.	Alta precisão.	Diagnóstico tardio.

2. INDUÇÃO E SINCRONIZAÇÃO DE OVULAÇÃO PARA IATF EM BOVINOS DE CARNE

2.1 Generalidades sobre o ciclo éstrico

O ciclo éstrico é o período de tempo e o conjunto de ocorrências registadas do início de um estro até ao início do seguinte. Denomina-se estro ao período de receptividade sexual da fêmea (Frandsen, Wilke & Fails, 2003).

Em virtude do processo de domesticação, a fêmea bovina tornou-se num animal poliéstrico contínuo (Noakes, Parkinson & England, 2001), apresentando ciclos éstricos sucessivos que duram cerca de 18 a 24 dias. O ciclo comporta duas fases: a fase lútea (14 a 18 dias) e a fase

folicular (4 a 6 dias) (Forde et al., 2011). Poderá ser interrompido por uma gestação ou uma patologia (Ball & Peters, 2004b; Cerón, 2007).

A partir do nascimento, registam-se ondas de crescimento folicular ováricas, que se vão desenvolvendo e, há migração dos folículos para a superfície da gónada. Na ausência de factores necessários à sua maturação e ovulação, aqueles cessam o seu crescimento e degeneram, por um processo conhecido por atresia. Na puberdade, estabelecem-se as condições anatómicas e hormonais necessárias (Noakes et al., 2001). Ela marca o início da ciclicidade ovárica, ocorrendo em novilhas dos 6 aos 12 meses, geralmente com pesos entre 200 a 250 kg (Forde et al., 2011).

A foliculogénese (crescimento folicular) ou seja, o tempo que um folículo primário leva até atingir a fase pré-ovulatória, dura cerca de 3 a 4 meses e pode ser dividida em duas fases. A fase inicial de crescimento depende de factores de crescimento locais, enquanto a fase final é dependente das gonadotrofinas (Webb, Garnsworthy, Gong & Armstrong, 2004).

O crescimento e desenvolvimento foliculares dependentes das gonadotrofinas caracterizam-se por duas ou três ondas foliculares consecutivas durante o ciclo éstrico. Por norma, as vacas de carne têm três ondas de crescimento folicular. Cada onda de crescimento folicular consiste num período de recrutamento de um grupo de folículos, selecção do folículo dominante e atresia ou ovulação do mesmo (Forde et al., 2011). Nos ciclos com duas ou três ondas foliculares, a primeira onda folicular surge no dia da ovulação (dia 1 do ciclo), enquanto a segunda onda emerge no dia 9 ou 10 nos ciclos com duas ondas, e no dia 8 ou 9 nos ciclos com três ondas, com a terceira onda a emergir dia 15 ou 16. A duração do ciclo éstrico é de aproximadamente 20 dias nos ciclos com duas ondas de crescimento folicular e de 23 dias nos ciclos com três ondas (Martinez, Adams, Kastelic & Mapletoft, 2001). Apenas o folículo dominante resultante da última onda folicular sofre maturação e ovulação (Forde et al., 2011). Após a ovulação, as células que anteriormente revestiam o folículo (células da granulosa e da teca interna) desenvolvem-se por hipertrofia e luteinização, tornando-se células lúteas do corpo lúteo (Noakes et al., 2001).

2.1.1 Regulação endócrina do ciclo éstrico

As funções ováricas (crescimento folicular, ovulação, luteinização e luteólise) são reguladas por hormonas endócrinas produzidas pelo hipotálamo (GnRH), pela hipófise anterior [hormona folículo-estimulante (FSH) e LH], pelos ovários [P_4 , estradiol (E_2) e inibina] e pelo útero [prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$)] (Forde et al., 2011).

O ciclo é iniciado pela libertação de GnRH pelo hipotálamo (Ball & Peters, 2004). Esta libertação de GnRH pode ser modulada por esteróides (estradiol e progesterona) e péptidos (inibina) produzidos pelos ovários, mas a sua secreção basal é determinada por estímulos

neurais destinados ao hipotálamo. A libertação basal de GnRH é de carácter pulsátil (Frandsen et al., 2003), exercendo a sua acção sobre a hipófise anterior, regulando a secreção das gonadotrofinas, FSH e LH (Forde et al., 2011).

A elevação dos níveis de FSH promove o crescimento de um grupo de cinco a seis folículos antrícos (folículo com líquido folicular) com três a quatro milímetros (mm) de diâmetro (Cerón, 2007). Em cada onda folicular, o folículo que sintetiza precocemente receptores para LH torna-se o FD, enquanto os subordinados sofrem atresia (Martinez et al., 2001). O folículo seleccionado exerce dominância mediante a inibição da diferenciação e crescimento dos folículos subordinados. Assim, o FD produz estrogénios e inibina, hormonas que suprimem a secreção de FSH, o que leva ao bloqueio do crescimento dos folículos subordinados, já que estes dependem totalmente do estímulo da FSH. Por outro lado, o FD continua a crescer, apesar das concentrações basais de FSH. Quando alcança um diâmetro de 9-10 mm, sintetiza receptores para LH ao nível da granulosa. A atresia do FD, depois de um período fisiológico de dominância, depende da frequência pulsátil da secreção de LH (Cerón, 2007).

A supressão de LH, como consequência da secreção de P_4 pelo CL, faz cessar as funções metabólicas do FD e este começa a regredir. Isto leva a uma libertação de FSH e à emergência de uma nova onda folicular (Martinez et al., 2001). O desenvolvimento do FD é acelerado depois do CL ter regredido (Frandsen et al., 2003). O aumento das concentrações de E_2 , devido ao rápido desenvolvimento do FD pré-ovulatório, associado à diminuição da concentração de P_4 , induz um pico de GnRH e permite a exibição do comportamento de estro, durante o qual as fêmeas bovinas são sexualmente receptivas (Forde et al., 2011). Este pico pré-ovulatório de GnRH leva a um aumento da frequência pulsátil de LH, o FD aumenta o seu crescimento e as concentrações drasticamente elevadas de estradiol resultam num *feedback* positivo sobre o eixo hipotálamo-hipofisário e, no pico pré-ovulatório de LH (Martinez et al., 2001). As células da granulosa respondem a este pico, transformando as células produtoras de estrogénio em células produtoras de P_4 . A transformação das células da granulosa em células lúteas (células do CL) faz parte da luteinização. Este processo é posterior à ovulação. Por isso, nesta altura, os níveis de estrogénio estão a diminuir e os de P_4 , a aumentar. Sob a influência do pico de LH, as células da granulosa também adquirem a capacidade de sintetizar prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. Estes induzem uma resposta local similar à inflamatória, que levará ao enfraquecimento da parede folicular e promoverá a sua rotura (Frandsen et al., 2003). Na ovulação, o fluido folicular dispersa-se na cavidade abdominal e liberta-se o ócito, que é recolhido pelas fímbrias do infundíbulo do oviduto (Ball & Peters, 2004b).

A ovulação ocorre 10 a 14 horas após o estro, ou seja, 24 a 32 horas após o início do pico de LH (que dura cerca de 7 a 8 horas) e é seguida pela fase lútea do ciclo (Ball & Peters, 2004b; Forde et al., 2011). Esta comporta três processos principais: transformação das células foliculares em células lúteas (luteinização), crescimento e desenvolvimento do CL com produção de elevadas quantidades de P_4 (diestro) e regressão do CL (luteólise) (Senger, 2003).

O início da fase lútea, também conhecido por metaestro, dura três a quatro dias. É caracterizado pela formação do corpo lúteo hemorrágico (Forde et al., 2011). Este revela grande rapidez de crescimento. Assim, dois dias após a ovulação, as concentrações de P_4 no sangue começam a aumentar e, no quinto dia, já se detectam concentrações superiores a 1ng/mL, o que indica que o CL adquiriu a sua plena funcionalidade (Cerón, 2007).

A função básica da P_4 durante esta fase do ciclo éstrico é a de preparar o útero da fêmea bovina para a gestação. Esta hormona aumenta a secreção das glândulas uterinas e inibe a motilidade do útero com o objetivo de promover a implantação do embrião e manter a gestação. Também promove o desenvolvimento da glândula mamária (Frandsen et al., 2003).

Se a gestação não se estabelecer, o CL regride para permitir à fêmea o reinício do ciclo éstrico (Frandsen et al., 2003). A luteólise é desencadeada pela comunicação entre o útero e o ovário através da $PGF_{2\alpha}$. A lise do CL é seguida pela redução marcada das concentrações de progesterona. O *feedback* negativo exercido por esta sobre o hipotálamo é removido e a fêmea entra numa nova fase folicular porque a frequência pulsátil e a amplitude da GnRH aumentam, o que promove novamente, a libertação de FSH e LH (Senger, 2003).

2.1.2 Actividade ovárica durante a gestação

Durante a gestação, o crescimento folicular é contínuo durante os primeiros dois trimestres, em intervalos regulares de 7 a 10 dias (Crowe, 2008; Forde et al., 2011). Nesta fase, os folículos atingem, no máximo 6 mm de diâmetro (Noakes et al., 2001). Na fase tardia da gestação (nos últimos 22 dias), o forte *feedback* negativo dos progestagénios (provenientes do CL e da placenta) e os estrogénios (principalmente os de origem placentária), contrariam a elevação de FSH requerida para o crescimento folicular. Assim, as ondas de crescimento folicular são interrompidas por aquela altura (Crowe, 2008; Forde et al., 2011).

2.1.3 Actividade ovárica no pós-parto

O parto é seguido por um período de inactividade ovárica e quiescência sexual, antes do ciclo reprodutivo recomeçar (Ball & Peters, 2004b).

O défice hormonal primário que resulta no estabelecimento do anestro pós-parto nas vacas aleitantes é resultante da falha na secreção de LH, que levaria ao desenvolvimento e maturação final de um folículo pré-ovulatório, produtor de estrogénios. Este défice depende

de mecanismos centrais associados ao controlo da secreção de GnRH (Montiel & Ahuja, 2005).

O armazenamento de LH na hipófise anterior é muito pequeno durante o parto, em virtude da elevada concentração de estradiol produzido pela placenta, que é registada durante a fase final da gestação (Nett, 1987, citado por Williams & Amstalden, 2010). A elevada concentração de estradiol em circulação inibe a síntese das subunidades α e β da molécula de LH (Williams & Amstalden, 2010). Esta adeno-hipófise refractária pós-parto pode ser confirmada pela ausência de resposta após a administração de GnRH (Noakes et al., 2001).

O efeito inibitório do estradiol termina com o parto e, 2 a 3 semanas depois, as reservas de LH são similares às das vacas cíclicas (Montiel & Ahuda, 2005). Com a P₄ e o estradiol em concentrações basais, existe uma elevação transitória das concentrações de FSH, 3 a 5 dias após o parto (Crowe, 2008, citado por Forde et al., 2011). O armazenamento e libertação de FSH não se alteram apreciavelmente, durante o período pós-parto precoce (Williams & Amstalden, 2010).

Assim, as ondas de crescimento folicular são restabelecidas, em intervalos de 7 a 10 dias. A primeira onda folicular produz um folículo dominante entre os dias 7 e 10 pós-parto. O seu destino depende da sua capacidade de secreção de estradiol, de forma a induzir um pico de gonadotrofinas. Por sua vez, aquela é dependente da frequência pulsátil de LH durante a fase de dominância, do tamanho do folículo e da biodisponibilidade de IGF-1 (Crowe, 2008). Este é um mediador metabólico que influencia a libertação de LH (Ball & Peters, 2004b).

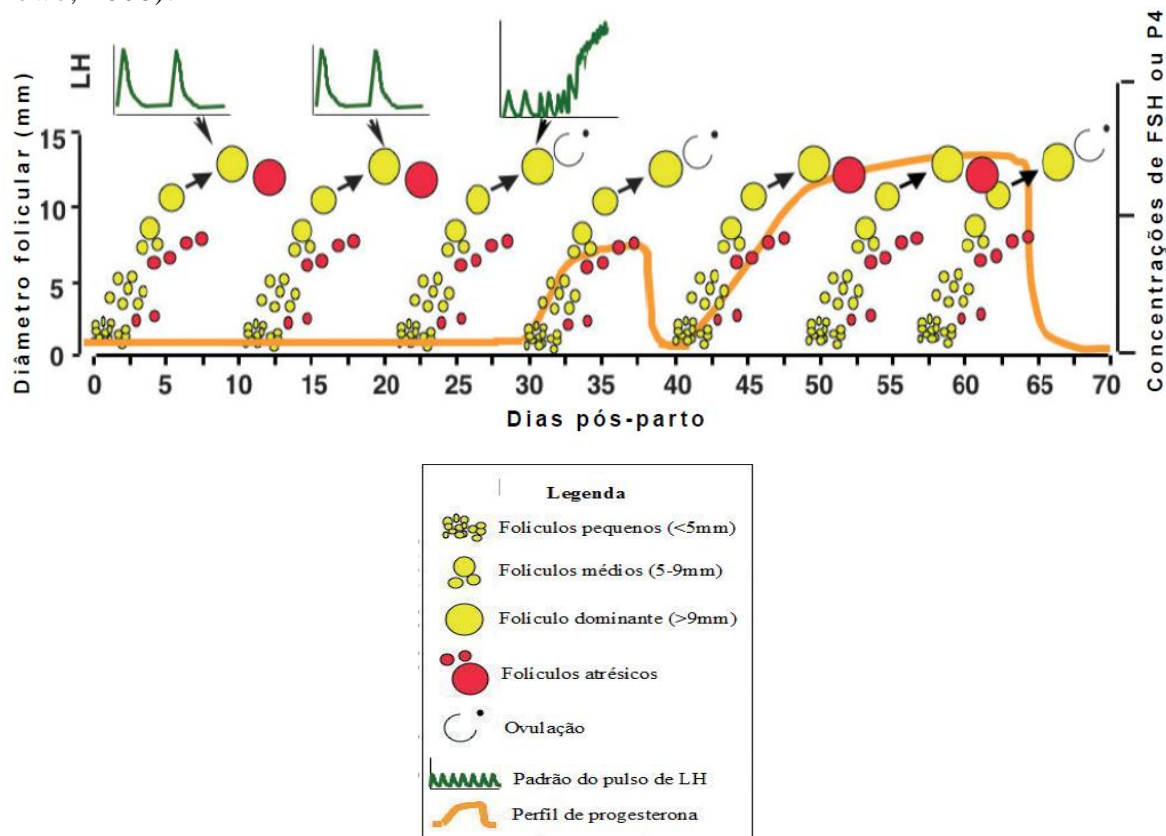
Para que o FD ovule, é necessário um pulso de LH por hora (Crowe, 2008 citado por Forde et al., 2011). A capacidade da hipófise para libertar LH é muito mais lenta neste período. Apesar da rápida libertação de GnRH provocar algum aumento de LH, esta hormona rapidamente retorna a níveis basais (Noakes et al., 2001)

Nas vacas aleitantes, o primeiro folículo dominante geralmente não ovula, sofrendo atresia. Nestas fêmeas com boa CC, o primeiro folículo dominante a ovular é geralmente resultado da terceira onda folicular (aproximadamente por volta do dia 30 pós-parto). Pelo contrário, as fêmeas com CC pobre têm cerca de 11 ondas foliculares antes de ocorrer a primeira ovulação (Crowe, 2008).

A primeira ovulação é geralmente silenciosa e seguida por um ciclo curto, de apenas uma onda folicular. Esta primeira fase lútea é reduzida devido à libertação prematura de PGF_{2 α} , presumivelmente decorrente do aumento de estradiol produzido pelo FD subsequente, nos dias 5 a 8 do ciclo. Assim, o CL regride prematuramente por volta dos dias 8 a 10, com a segunda ovulação a ocorrer aproximadamente 9 a 11 dias após a primeira ovulação. Esta

segunda ovulação está geralmente associada à expressão de estro e a uma duração normal da fase lútea (Crowe, 2008)

Gráfico 5: Esquema de representação do reinício do ciclo ovário durante o período pós-parto em vacas de carne. Frequência do pulso de LH de 8 em 8 horas (adaptado de Crowe, 2008).



O intervalo do parto até à primeira ovulação (anestro pós-parto) é um dos factores determinantes da eficiência reprodutiva nas vacas com aptidão cárnica (Sanz, Casasús, Villalba & Revilla, 2003).

Vários estudos relatam diferenças no reinício da actividade ovárica pós-parto dependendo da raça do animal. Factores de manejo tais como a nutrição e a amamentação também podem afectar o reinício da actividade ovárica. No entanto, a possibilidade de interacções entre o genótipo, ambiente e manejo também pode ter a sua importância (Sanz et al., 2003).

2.2 Importância dos protocolos de sincronização de ovulação numa vacada de carne

A sincronização do ciclo éstrico em bovinos tem desempenhado um papel importante no controlo da reprodução durante as últimas quatro décadas, fazendo com que a IA, a superovulação e a transferência de embriões se tornassem procedimentos mais fáceis de aplicar no contexto dessas explorações pecuárias (Gordon, 2004d). No entanto, o evento chave que determina se uma vaca fica gestante ou não, depois de serviço natural ou IA é a ovulação, em vez dos sinais de estro (Gordon, 1996c).

Esta estratégia tem potencial para encurtar a época de parto, aumentar a uniformidade entre as crias, bem como melhorar a possibilidade de utilização da IA (Lamb et al., 2010).

Embora a IA possa contribuir, de forma decisiva, para o melhoramento genético de vacas aleitantes, a sua aplicação prática foi difícil de implementar já que, a expressão do estro pode ser pobre, bem como a eficácia da sua detecção por humanos; a duração do estro pode ser variável e há dificuldade em prever-se o momento da ovulação (Costa et al., 2011). Por isto, a eficiência reprodutiva dos rebanhos que utilizam IA ainda é confundida com a necessidade de detectar as vacas em cio e submeter essas vacas ao serviço, num tempo apropriado. Nesse sentido, os protocolos de sincronização da ovulação, incorporando a IATF, podem ser usados para eliminar a necessidade da detecção do estro e maximizar a taxa de submissão durante a época de reprodução e, portanto, maximizar a possibilidade de atingir o alvo de um intervalo entre partos de 365 dias (Lane, Austin & Crowe, 2008).

A sincronização do estro ou da ovulação permite a IA e os partos por lotes, facilitando o manejo. Isto é particularmente importante em grupos de novilhas de substituição e em vacas que estão a amamentar. Geralmente, nestes animais, o manejo é feito por grupos e, não recebem a atenção que é frequentemente concedida, individualmente, a vacas de aptidão leiteira. Tradicionalmente, as novilhas e as vacas em aleitamento são beneficiadas por cobrição, em parte devido às dificuldades associadas à detecção do estro. Portanto, o uso de agentes farmacológicos para controlo do ciclo éstrico pode, potencialmente, aumentar a eficácia da IA nestas situações (Ball & Peters, 2004c).

Um protocolo de sincronização do ciclo éstrico ideal resulta num início de ciclo síncrono independentemente do estágio do ciclo reprodutivo ou éstrico, no início do tratamento, sem que a taxa de gestação seja afectada (Lane et al., 2008).

2.3 Bases da sincronização

Os protocolos de sincronização para bovinos envolvem a combinação de prostaglandinas, GnRH e progesterona (Ax, Bowen & Rhoads, 2008).

No contexto da produção de carne, estes protocolos têm sido desenvolvidos em três sentidos: 1. Destinados exclusivamente à IATF; 2. No máximo, em 3 manipulações da fêmea e 3. Eficientes em vacas cíclicas e anéstricas (Lamb, 2010).

2.3.1 Prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) e seus análogos

A hormona pioneira de qualquer protocolo de sincronização foi a $PGF_{2\alpha}$. Como acontece, naturalmente com as vacas cíclicas, esta hormona leva ao comportamento de cio através da lise do CL e da eliminação dos efeitos inibitórios da P_4 sobre a secreção das gonadotrofinas (Dejarnette, n. d.).

A $\text{PGF}_{2\alpha}$ e os seus análogos sintéticos têm sido utilizados na regulação do ciclo éstrico desde 1970 (Gordon, 1996c; Cavalieri, Hepworth, Fitzpatrick, Shephard & Macmillan, 2006). Os análogos da $\text{PGF}_{2\alpha}$ têm a vantagem de serem geralmente mais potentes que a hormona natural e terem menos efeitos colaterais (Gordon, 1996c). A $\text{PGF}_{2\alpha}$ é uma hormona luteolítica que regula o tempo de vida do CL. A maior limitação na sua utilização, reside no facto de apenas funcionar quando o animal possui um CL funcional. Por isto, não é adequada para o uso em novilhas pré-púberes e em vacas no início do período pós-parto. Se a $\text{PGF}_{2\alpha}$ for administrada a partir do dia 6 do ciclo éstrico até ao momento da luteólise natural (dia 17, em novilhas e dia 18, em vacas) induz de imediato, a regressão do CL, a diminuição da secreção de P_4 e a transição para a fase folicular, resultando num aumento da frequência pulsátil de LH, permitindo que a ovulação ocorra (Gordon, 1996c; Lane et al., 2008; Patterson, Thomas, Martin, Nash & Smith, 2013).

Sendo assim, a $\text{PGF}_{2\alpha}$ não tem efeito directo nas ondas foliculares. De vaca para vaca, existem diferenças no tamanho do FD no momento da administração da hormona, resultando numa variação considerável do intervalo entre a administração da $\text{PGF}_{2\alpha}$ e a exibição do estro. Fêmeas com FD funcionais no momento da administração, podem exibir o estro em 36 a 48 horas, enquanto as que tiveram FD pequenos (na fase de pré-dominância) podem exigir um período de 4 ou 5 dias. Por isto, a IATF após a administração isolada de $\text{PGF}_{2\alpha}$ raramente produz resultados aceitáveis (Dejarnette, n.d.).

2.3.2 Progesterona (P_4) e seus análogos

A P_4 suprime a frequência pulsátil de LH que, por sua vez, faz com que o FD sofra atresia ou persista, prevenindo o estro e a ovulação (Lane et al., 2008). Porém, não suprime a secreção de FSH. Assim, as ondas de crescimento folicular continuam a sucederem-se na presença de um CL funcional. Progestagénios administrados durante um intervalo de tempo superior à fase lútea (mais de 14 dias), resultam em estro síncrono após a sua remoção, apesar da fertilidade ser baixa. O tipo e a dose de progestagénio usado no controlo do ciclo éstrico têm efeitos menos supressores da secreção de LH, relativamente à progesterona produzida pelo CL e podem estar associados a uma frequência pulsátil aumentada e ao desenvolvimento de folículos persistentes que contêm oócitos envelhecidos. A ovulação de um oócito envelhecido resulta em baixa fertilidade após a inseminação (Martinez et al., 2001).

Existem várias formas de administração de progesterona ou progestagénios ao animal, tais como formas orais, dispositivos intravaginais impregnados da hormona, implantes auriculares subcutâneos ou a via intramuscular, sendo os dois primeiros os mais utilizados (Ax, McCauley & Marks, 2008).

Note-se que a progesterona tem um tempo de semi-vida curto, o que faz com que seja necessária uma administração repetida ou contínua (Gordon, 1996c).

2.3.2.1 Acetato de Melengesterol (MGA)

O MGA é um progestagénio activo por via oral que vai suprimir o estro e impedir a ovulação, quando consumido por vacas ou novilhas, diariamente (Patterson & Smith, 2007).

Pode ser administrado através de grãos ou ligado a proteínas, misturado em alimentos e deve ser consumido a uma taxa de 0,5 miligrama (mg)/dia/animal, numa única refeição. A duração do tratamento pode variar entre protocolos, mas o nível de alimentação é consistente e fundamental para o sucesso (Patterson & Smith, 2007).

2.3.2.2 Dispositivos intravaginais de progesterona

Existem vários dispositivos intravaginais disponíveis comercialmente que libertam a P₄ continuamente, ao longo do tempo. Variam na forma, no material e na quantidade de hormona impregnada no dispositivo (Cavalieri et al., 2006).

A colocação dos dispositivos é relativamente fácil e pode ser feita por um único operador. Durante a aplicação devem ser tomadas medidas rigorosas de assépsia e, alguns utilizadores, puseram reservas quanto ao seu uso, tendo em conta a acumulação de tecido cicatricial após tratamentos repetidos, durante a vida reprodutiva do animal (Gordon, 1996c).

Actualmente, os dispositivos mais utilizados são o dispositivo intravaginal de libertação de progesterona (*progesterone-releasing intravaginal device* – PRID) e o dispositivo intravaginal de libertação controlada de fármaco (*controlled intravaginal drug releasing device* – CIDR) (Lane et al., 2008).



Figura 3: Dispositivo intravaginal de libertação de progesterona (PRID) (Rathbone, Bunt & Burggraaf, 1997).

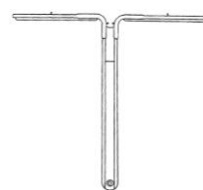


Figura 4: CIDR (Rathbone et al., 1997).

O PRID é uma espiral de metal (Figura 3) revestido de um elastómero de silicone impregnado em P₄, capaz de libertar quantidades de P₄ fisiologicamente eficazes durante 2 a 3 semanas. A dose habitual de P₄ transportada pelo PRID é de 1,55g (Gordon, 1996c). Actualmente, existe um novo modelo relativamente novo de PRID, denominado Delta PRID. Este possui a mesma quantidade de P₄ do PRID convencional. A maior diferença encontra-se na forma. Trata-se de um dispositivo triangular com fio duplo de cerca de 50 cm, de tracção (Ceva Saúde Animal, 2010).

O CIDR é um dispositivo em forma de “T” (Figura 4) com asas flexíveis que se unem para formar um “I”, que pode ser inserido profundamente na vagina com um aplicador lubrificado após a desinfecção da vulva. Na extremidade oposta das asas, há uma cauda filamentosa para facilitar a remoção (Lamb, 2010). Encontra-se impregnado de 1,38g de P_4 num revestimento de elastómetro de silicone moldado numa estrutura de nylon (Apifarma, 2013). Após a inserção, as concentrações séricas de P_4 sobem rapidamente, com concentrações máximas ao fim de uma hora. As concentrações de P_4 são mantidas num nível relativamente constante, pelo menos durante sete dias (Lamb, 2010).

A taxa de retenção do CIDR é de aproximadamente 95%. Uma menor taxa de retenção pode dever-se à inserção incorrecta ou à remoção por outros animais ao morderem e puxarem o filamento de poliéster (Patterson & Smith, 2007).

Embora a vaginite seja comum com a utilização do CIDR, a fertilidade não está comprometida (Patterson & Smith, 2007).

2.3.3 Gonadoliberina (GnRH) e seus análogos

A administração de GnRH ou dos seus análogos, induz um aumento das gonadotrofinas, altera o padrão de crescimento folicular e pode levar o FD a ovular (Lane et al., 2008). Cerca de 2 a 4 horas após a administração de GnRH, existe um aumento das concentrações periféricas de LH e FSH (Twagiramungu, Guilbault & Dufour, 1995). Consequentemente, uma nova onda de crescimento folicular é iniciada 2 a 3 dias após a sua administração, qualquer que seja o estágio do ciclo éstrico em que a vaca se encontre (Lamb et al., 2010). Porém, a ovulação não ocorre em todos os casos, pois a capacidade de um folículo em ovular depende do seu estágio de desenvolvimento, no momento do tratamento (Figura 6) (Twagiramungu, Guilbault, Proulx & Dufour, 1994).

O pico de LH induzido pela GnRH é responsável pela ovulação de FD que se encontra em fase de crescimento ou de *plateau* do seu desenvolvimento. Pode saber-se se o FD se encontra nestas fases, através da elevação de E_2 , durante a fase folicular e fase lútea precoce. No entanto, a administração de GnRH não interfere com o diâmetro do FD durante a sua fase de regressão. Isto pode ser explicado porque os receptores de LH presentes no FD vão diminuindo à medida que este se desenvolve. Assim, quando as concentrações periféricas de P_4 estão aumentadas (durante as etapas média e final da fase lútea), a ovulação não ocorre, mas o FD presente aquando da administração da GnRH, regride porque a atresia já está a ocorrer. Concentrações elevadas de P_4 estão associadas à atresia dos grandes folículos, provavelmente devido a uma diminuição da frequência dos pulsos e dos receptores foliculares de LH (Twagiramungu et al., 1995).

Apesar da GnRH não ser tão eficaz quanto o estradiol para sincronização da emergência de uma nova onda folicular, é actualmente a única hormona permitida na União Europeia para este fim (Martinez et al., 2012).

2.4 Protocolos combinados

O desenvolvimento dos métodos de sincronização do estro ocorreu em 5 fases distintas. As bases fisiológicas para a sincronização do estro seguiram-se à descoberta de que a P₄ inibia a maturação do folículo pré-ovulatório e a ovulação. Por isto, acreditava-se que a regulação do ciclo éstrico estaria apenas relacionada com o controlo do CL (Patterson & Smith, 2007).

A primeira fase incluiu esforços para prolongar a fase lútea do ciclo éstrico ou estabelecer uma fase lútea artificial através da administração de P₄ (Patterson & Smith, 2007).

Mais tarde (fase 2), agentes progesterónicos foram associados aos estrogénios ou gonadotrofinas, enquanto a fase 3 envolveu a utilização de PGF_{2α} e dos seus análogos como agentes luteolíticos (Patterson & Smith, 2007).

Tratamentos que combinam agentes progesterónicos com PGF_{2α} caracterizam a fase 4 (Patterson & Smith, 2007). Esta é uma forma de lidar com a fase lútea precoce, durante a qual o CL da vaca não é sensível à acção da PGF_{2α}. Colocando-se todos os animais sob tratamento com P₄, por pelo menos 5 dias antes de ser administrada a PGF_{2α}, garante-se que o CL vai ser responsivo a esta hormona (Gordon, 1996c).

A monitorização precisa dos folículos e CL ovários ao longo do ciclo éstrico através da utilização da ecografia transrectal expandiu o conhecimento do ciclo éstrico bovino e, particularmente, das alterações que ocorrem durante uma onda folicular. Agora (fase 5), sabe-se que o controlo preciso do estro e da ovulação requer o controlo simultâneo das ondas foliculares e do CL (Patterson & Smith, 2007).

Uma única administração de GnRH em vacas que se encontrem em diferentes estádios do ciclo éstrico causa libertação de LH, levando a ovulação sincronizada ou luteinização dos grandes FD. Por conseguinte, uma nova onda de crescimento folicular é iniciada em todas as fêmeas, 2 a 3 dias após a administração de GnRH. O tecido lúteo formado é capaz de sofrer luteólise induzida pela PGF_{2α}, 6 a 7 dias depois. Uma desvantagem deste método é que cerca de 5 a 15% das vacas são detectadas em estro antes ou no dia da administração da PGF_{2α} (Patterson & Smith, 2007).

2.5 Protocolo Ovsynch

Os fisiologistas da reprodução há muito tempo que procuravam o desenvolvimento de um programa de sincronização da onda folicular que pudesse superar os problemas e limitações associados à detecção visual do estro. Até que, Pursley, Mee e Wiltbank, em 1995 desenvolveram este protocolo (Fricke, 2004). O termo *Ovsynch* (esquematizado na Figura 5) significa sincronização da ovulação (Wiltbank & Pursley, 2014).



Figura 5: Esquema representativo do protocolo Ovsynch.

O *Ovsynch* contempla três administrações. No dia 0, um dia aleatório do ciclo éstrico, a vaca recebe GnRH. Este péptido causa libertação de FSH e LH pela adeno-hipófise. A LH provoca ovulação ou luteinização do FD. Por outro lado, a FSH estimula o desenvolvimento de uma nova onda folicular. Um dos folículos resultantes torna-se dominante (Pursley, Mee & Wiltbank, 1995; Jordan, 2007).

No dia 7, a $\text{PGF}_{2\alpha}$ é usada como segundo tratamento. Provoca a regressão de qualquer CL acessório ou folículo luteinizado pela GnRH ou, ainda, de qualquer CL presente originário de uma ovulação espontânea anterior (Pursley et al., 1998).

O tratamento final consiste numa segunda dose de GnRH, administrada 48 horas após a $\text{PGF}_{2\alpha}$. A GnRH causa novamente um pico de LH, que induz a ovulação do folículo pré-ovulatório, normalmente 24 a 32 horas depois (Pursley et al., 1995; Jordan, 2007).

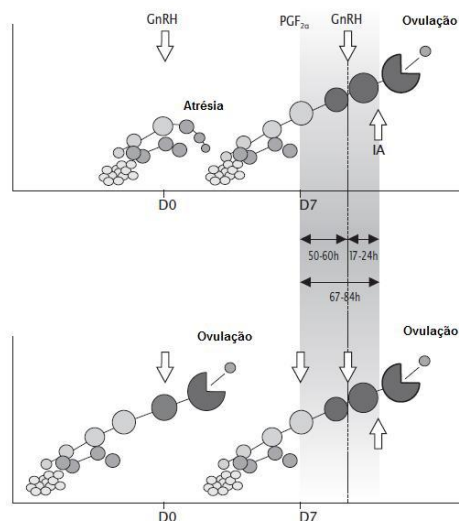


Figura 6: Dinâmica folicular em vacas sujeitas ao *Ovsynch* (adaptado de Baruselli, 2007).

Para que o retorno do investimento num programa de sincronização seja o maior possível, é necessário cumprir escrupulosamente os horários das administrações. Por exemplo, se a dose final de GnRH for aplicada às 24 horas, em vez de às 48 horas, os folículos estarão demasiado imaturos para ovular (Jordan, 2007).

O estudo inicial do *Ovsynch* avaliou a IA às 0, 8, 16, 24 e 32 horas após a segunda administração de GnRH (Tabela 14). Ficou demonstrado que a ovulação ocorre entre as 24 e as 32 horas, após a segunda GnRH (Pursley et al., 1998).

Tabela 12: Percentagens de concepção e de nascimentos em vacas, quando a IA foi feita a intervalos variados, após a 2ª GnRH do *Ovsynch* (adaptado de Pursley et al., 1998).

	Tempo desde a 2ª administração de GnRH até à IA				
	0h	8h	16h	24h	32h
% Concepção	37	41	45	41	32
% Nascimentos	31	31	33	29	20

A taxa de concepção mais elevada foi registada às 16 horas, daí ser este, o intervalo recomendado para a IATF. Existem ligeiras quebras da taxa de concepção quando a IA ocorre às 0, 8 ou 24 horas, após a segunda GnRH (Pursley et al., 1998). Em virtude dessa ligeira redução na fertilidade, alguns produtores podem eleger a IA para um desses momentos, para evitar o período mais quente do dia ou por qualquer outro motivo de manejo (Jordan, 2007).

Sob nenhuma circunstância, o momento da IA deve ser adiado para as 32 horas, já que as taxas de concepção são muito baixas e as perdas durante a gestação são mais elevadas (Jordan, 2007). Tudo isto porque os spz necessitam de cerca de 6 a 12 horas para o transporte até ao local da fecundação e, sobretudo, para a capacitação no aparelho reprodutor da fêmea, o que, no seu conjunto, resulta num oócito envelhecido antes da fecundação (Brusveen et al., 2008). Por outro lado, o tempo de vida útil do oócito situa-se entre as 12 a 18 horas e a sua competência diminui com o tempo (Baruselli, 2007). A fecundação de um oócito envelhecido leva à produção de um embrião de baixa qualidade (Walker, Nebel & McGilliard, 1996 citados em Brusveen et al., 2008).

Deste modo, um intervalo de tempo de 12 a 24 horas entre a IA e a ovulação pode resultar em melhoria da taxa de fertilização e em embriões de boa qualidade (Brusveen et al., 2008).

2.6 Algumas modificações do protocolo *Ovsynch*

2.6.1 Co-Sincronização (*CO-Synch*)

Este protocolo consiste em associar à IA a segunda administração de GnRH, tornando-se mais prático para o produtor de carne que o *Ovsynch* clássico (Geary, Whittier, Hallford & Macneil, 2001) e está esquematizado na Figura 7.

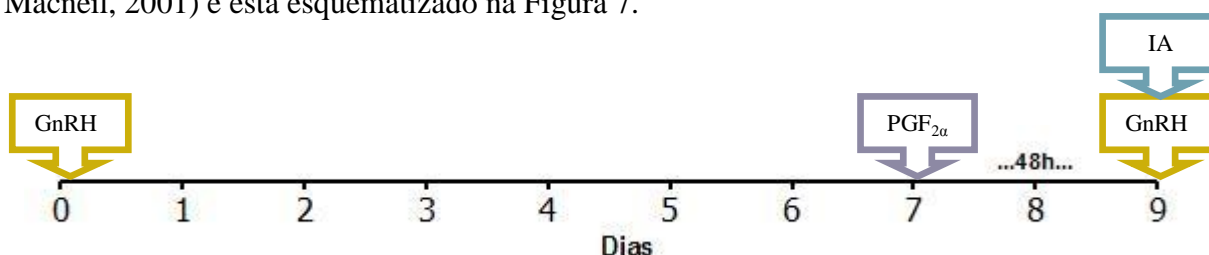


Figura 7: Esquema representativo do *CO-Synch*.

O *CO-Synch* requer menos tempo, tanto a nível de realização, como na identificação e manejo de cada animal, diminuindo assim os custos de mão-de-obra, o *stress* da vaca e outros problemas associados à manipulação para a administração terapêutica e no processo de IA (Brusveen et al., 2008).

Apesar das vantagens, o excessivo tempo entre a ovulação e a inseminação (>24 horas) parece reduzir a fertilidade. A perda da viabilidade dos spz é, provavelmente, responsável por este declínio (Brusveen et al., 2008). No caso do sémen congelado, o tempo de vida dos espermatozóides é de cerca de 24 horas, mas a sua viabilidade diminui com o tempo (Smith, Pohler, Perry & Patterson, 2013).

Uma preocupação a ter em conta é o número de vacas que são induzidas a ovular folículos de menor diâmetro que o padrão, à segunda administração de GnRH e, o facto destes animais parecerem estar menos propensos a ficarem gestantes (Day & Bridges, 2013). Para além disso, estas fêmeas registam uma maior taxa de ovulação dupla e um aumento da incidência de fases lúteas curtas. A causa da redução da fertilidade de vacas que ovulam um folículo pequeno, além da fase lútea curta, poderá estar relacionada com uma reduzida concentração pré-ovulatória de E₂ e sub-função lútea após a IA (Wiltbank & Pursley, 2014).

Ficou demonstrado que, em vacas com folículos ovulatórios com diâmetros constantes, a duração do pró-estro (intervalo de tempo que vai do início da regressão do CL até ao pico de LH) tem uma influência substancial na taxa de concepção, sendo que as fêmeas com pró-estro mais longo revelam taxas de concepção mais elevadas (Day & Bridges, 2013).

Com o objectivo de aumentar o diâmetro do FD à ovulação, compararam-se vários intervalos de tempo entre a administração da PGF_{2α} e a segunda GnRH, como por exemplo o *CO-Synch-48* (descrito anteriormente; ver Figura 8) com o *CO-Synch-72* (administração da segunda GnRH e IA, 72 horas após a administração da PGF_{2α}) (Brusveen et al., 2008). Verificou-se que o *CO-Synch-72*, que permite maior duração do pró-estro, resultou numa melhoria da fertilidade nos bovinos de carne (Wiltbank & Pursley, 2014).

Por outro lado, deve ter-se em atenção que o intervalo PGF_{2α} – GnRH não pode ser demasiadamente longo. A ovulação de um folículo maior / mais velho, também pode resultar em redução da fertilidade (Wiltbank & Pursley, 2014). Por exemplo, vacas com duas ondas foliculares têm um intervalo de tempo maior entre a emergência do folículo e o estro (idade do folículo) relativamente às vacas com três ondas foliculares. Isto faz com que a taxa de gestação após IA seja menor em vacas com duas ondas foliculares (Bridges & Day, 2013).

2.6.2 Importância da pré-sincronização associada a um protocolo para IATF

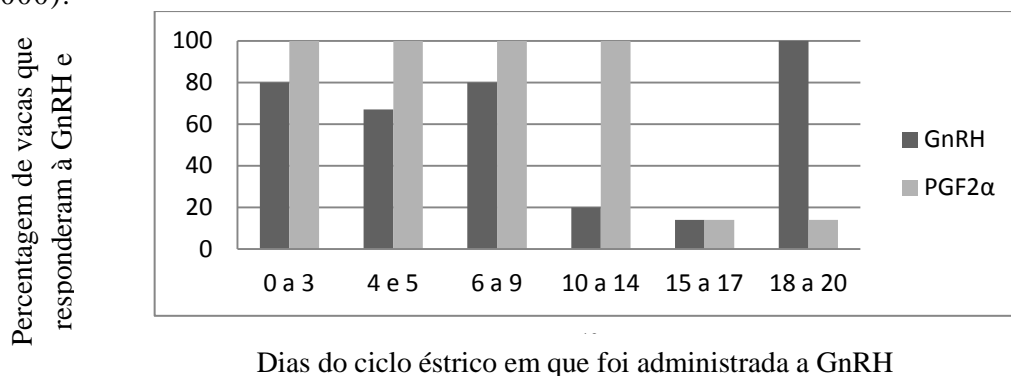
Vasconcelos, Silcox, Rosa, Pursley e Wiltbank (1999), citados em Wiltbank & Pursley (2014), demonstraram que a resposta ao *Ovsynch* difere de acordo com o estadio do ciclo éstrico em que cada vaca recebe a primeira administração de GnRH. Este estudo foi feito em

vacas leiteiras e demonstrou que, por exemplo, quando o protocolo é iniciado entre o dia 1 e o dia 4 do ciclo éstrico raramente resulta em ovulação, enquanto entre os dias 5 e 9 causa ovulação em quase todas as vacas. Assim, as vacas que se encontram entre os dias 1 e 4, têm um folículo maior e mais velho, que ovulará à segunda administração de GnRH (com cerca de 19,2 mm de diâmetro), que as vacas que iniciaram o *Ovsynch* entre os dias 5 e 9 (16,8mm de diâmetro). As fêmeas tratadas entre os dias 5 e 9 também revelaram maior concentração de P₄ circulante, no momento da administração de PGF_{2α} (3,6ng/mL), provavelmente devido à presença de dois CL, quando comparadas com as vacas que iniciaram o *Ovsynch* entre os dias 1 a 4 (2,5ng/mL). Em contraste, vacas com início do *Ovsynch* em dias do ciclo mais tardios (12 a 21) também revelaram baixa P₄, antes da administração de PGF_{2α}, devido à regressão do CL, em algumas delas. Algumas destas fêmeas, que não ovulam à primeira administração de GnRH, podem fazê-lo antes da segunda administração de GnRH. As vacas que são tratadas no final do ciclo e têm ovulação sincronizada, ovulam um folículo maior do que as vacas que são tratadas entre os dias 5 e 9. De particular importância, são as vacas de quem se espera folículos maiores (*Ovsynch* iniciado entre os dias 1 a 4 ou entre os dias 14 a 21), que têm taxas de gestação mais baixas que outras que ovulam folículos menores (*Ovsynch* iniciado entre os dias 5 e 13 do ciclo) (Vasconcelos et al., 1999, citados em Wiltbank & Pursley, 2014).

Em virtude das vacas de carne terem uma maior propensão para três ondas foliculares, em contraste com as duas ondas de crescimento folicular típicas das vacas de leite, podem existir variações à resposta ao *Ovsynch*, em função do dia do início do tratamento (Geary & Whittier, 1998).

Geary, Downing, Bruemmer & Whittier (2000) avaliaram a resposta de vacas multíparas de aptidão cárnica à primeira administração de GnRH e da PGF_{2α} sete dias após (protocolo *Select Synch*), com conhecimento prévio do dia do ciclo éstrico no início do protocolo. As respostas foram diferentes das do estudo anterior (Wiltbank & Pursley, 2014), com vacas de leite, e estão representadas no Gráfico 6.

Gráfico 6: Percentagem de vacas de carne que responderam à acção da GnRH e da PGF_{2α} em função do dia do ciclo éstrico em que o protocolo foi iniciado. Entende-se como resposta à GnRH a ovulação, formação de CL e início de uma nova onda folicular. A resposta à PGF_{2α} implica a regressão do CL (adaptado de Geary et al., 2000).



As vacas que se encontram entre dia 10 e 17 do ciclo éstrico estão na fase de *plateau* ou regressão folicular ou então, iniciaram recentemente, uma nova onda de crescimento folicular, aquando da administração da GnRH (Figura 2) (Geary et al., 2000).

Verificou-se que vacas de aptidão cárnica sujeitas ao protocolo *Ovsynch* iniciado num dia ao acaso do ciclo éstrico tinham uma taxa de gestação de cerca de 60 % (Geary & Whittier, 1998). Contudo, a monitorização do ciclo éstrico da vaca para se seleccionar o momento mais indicado para início do protocolo *Ovsynch* não é viável e, de uma certa forma, vai contra a ideia da simplicidade e funcionalidade deste modelo, em não depender da fase do ciclo da vaca (Baruselli, 2007).

A pré-sincronização do ciclo éstrico com duas administrações de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ou através da dupla combinação de GnRH com $\text{PGF}_{2\alpha}$ eleva a proporção de vacas em diestro precoce no início do protocolo, para a IATF. As vacas nessa fase do ciclo éstrico têm uma probabilidade aumentada para ovular em resposta à GnRH exógena e de reduzir a ocorrência de luteólise espontânea antes do final do protocolo. Além de uma melhor sincronia do ciclo éstrico, tais respostas asseguram que o FD se desenvolva sob altas concentrações plasmáticas de P_4 e limitam a duração da dominância do folículo, que são por isso, factores importantes que afectam a fertilidade. Porém, a pré-sincronização aumenta a quota de manipulação dos animais, a mão-de-obra, os custos e alonga a duração do programa (Ribeiro et al., 2012).

2.6.2.1 Pré-Synch

O protocolo *Pré-Synch*, como o nome indica, é um protocolo que sincroniza previamente as vacas para que estas possam estar em estágio inicial do ciclo éstrico quando é administrada a primeira dose de GnRH, de forma a melhorar a resposta a esta hormona e, consequentemente, melhorar a taxa de gestação. O *Pré-Synch* contempla duas administrações de $\text{PGF}_{2\alpha}$, dadas com 14 dias de intervalo, com a última administração a ter lugar, 12 a 14 dias antes do início, tanto do *Ovsynch*, como do *CO-Synch* (Dejarnette, n.d.). As duas doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$ vão garantir que a maioria das vacas cíclicas terão um CL responsivo à $\text{PGF}_{2\alpha}$, aquando do *Ovsynch* (Cavalieri et al., 2006).

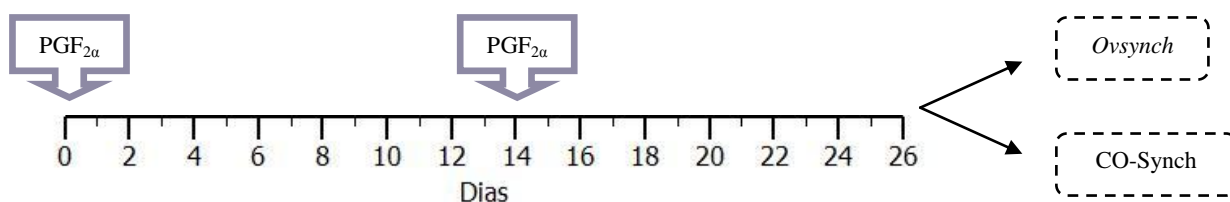


Figura 8: Ilustração do *Pré-Synch*.

O *Pré-Synch*, iniciado 26 dias antes do *Ovsynch*, melhora a fertilidade relativamente ao *Ovsynch* clássico. Um intervalo mais curto entre a segunda $\text{PGF}_{2\alpha}$ e o início do programa de

sincronização melhora a fertilidade relativamente a um intervalo mais longo (11 dias = 36,4%; 14 dias = 30,2%) (Wiltbank & Pursley, 2014).

2.6.2.2 Duplo Ovsynch (Double-Ovsynch)

Este protocolo usa um protocolo *Ovsynch*, seguido 7 dias mais tarde, por outro *Ovsynch*. Em teoria, as vacas cíclicas deverão ser sincronizadas, para que o *Ovsynch* se inicie ao dia 7 do ciclo éstrico (Wiltbank & Pursley, 2014). O *Double-Ovsynch* aumenta o número de vacas com CL à primeira administração de GnRH (93,7% versus 75,3%) e o teor de P₄ no momento da PGF_{2α} (88% versus 76%), em comparação com o *Pré-Synch-12*. Existe também um aumento na fertilidade com o *Double-Ovsynch* em comparação com o protocolo *Pré-Synch* (Wiltbank & Pursley, 2014).

No geral, o *Double-Ovsynch* parece melhorar a fertilidade relativamente ao *Ovsynch* tradicional e, por vezes, também em comparação com o *Pré-Synch* (Wiltbank & Pursley, 2014).

2.6.2.3 Utilização de P₄

A incorporação de P₄ foi pensada para prevenir o estro antes da administração de PGF_{2α} e fornecer exposição prévia à progesterona, às fêmeas em anestro antes da primeira administração de GnRH, em protocolos *Ovsynch* ou suas modificações (Patterson & Smith, 2007).

Como referido anteriormente, a frequência de libertação de LH pela hipófise anterior é regulada, principalmente, pela P₄ e tem sido referenciada uma associação negativa entre a concentração de P₄ e a frequência dos pulsos de LH (Bridges & Day, 2013).

Tem sido relatado, com frequência, que a fertilidade é superior, quando os protocolos do tipo *Ovsynch* coincidem com o início do diestro, que com as outras fases. Naquele período, existem duas estruturas principais nos ovários: um CL que está na sua fase de crescimento e um FD que é suficientemente grande para responder ao pico de LH induzido pela GnRH, levando a uma onda de crescimento folicular mais síncrona. Portanto, é lógico que a concentração de P₄ antes da administração da PGF_{2α} seja elevada, como acontece com a P₄ circulante em protocolos que incorporam a esta hormona, no período que medeia entre a primeira GnRH e a administração de PGF_{2α}. Pode ser aventada como hipótese, o facto de elevadas concentrações de P₄ durante a primeira fase do protocolo serem necessárias durante um curto espaço de tempo, para garantir que um folículo grande esteja presente por altura da segunda administração de GnRH (Martinez et al., 2012).

2.7 Novilhas de substituição

Com este tipo de fêmeas, os procedimentos incluem a sincronização do estro em animais cíclicos e a indução do estro e ovulação em novilhas que ainda não atingiram a puberdade (Patterson et al., 2013).

Para evitar problemas, as novilhas deverão ser seleccionadas para um programa de sincronização quando as seguintes condições estiverem garantidas: 1. devem ter atingido o peso alvo, que equivale pelo menos, a 65 % do peso do animal adulto; 2. deve ser realizado um exame ginecológico para confirmar a aptidão para a reprodução dessas fêmeas, até 2 semanas antes do início do protocolo de sincronização (Patterson et al., 2013).

Existem outros aspectos a ter em consideração para que a eficiência reprodutiva das primíparas seja máxima, tais como a posição hierárquica e a duração do anestro pós-parto neste grupo de animais (Larson & Randle, 2007).

A interacção social dentro das vacadas dita um estatuto inferior para animais menores e mais jovens, como as novilhas de reposição. Se os dois grupos são alimentados no mesmo espaço e lugar, a capacidade de ingestão das novilhas é negativamente afectada pela dominância exibida pelas vacas mais velhas. Por isto, as novilhas devem ser alimentadas separadamente das vacas adultas para conseguirem obter os nutrientes necessários (Larson & Randle, 2007).

O *stress* associado ao parto é maior nas primíparas do que em múltíparas e dificuldades associadas ao parto são mais prováveis naquele grupo. Além disso, a duração do anestro pós-parto é mais longo nas primeiras. Por isto, as novilhas de substituição devem iniciar a época de reprodução 28 dias antes das vacas (Larson & Randle, 2007).

Um programa de biossegurança da vacada que inclua rigorosos protocolos de desparasitação, vacinação e quarentena melhora as taxas de gestação e optimiza os custos por novilha gestante (Larson & Randle, 2007).

2.7.1 Protocolos *Ovsynch* e *CO-Synch*

Este tipo de protocolos, nas novilhas, resultam em taxas de gestação reduzidas. Isto deve-se à extrema variabilidade da resposta à GnRH, com base no dia do ciclo em que a hormona é administrada ou dado o estágio fisiológico da fêmea (pré-púbere ou púbere) (Patterson et al., 2013).

Atkins *et al.* (2008) avaliaram a resposta folicular em novilhas de carne quando a GnRH foi administrada, em dias específicos do ciclo éstrico. A resposta foi avaliada como ovulação e luteinização e, posterior início de uma nova onda folicular. Novilhas que receberam GnRH no dia 2, 10 e 18 do ciclo não ovularam mais de 70 % dos FD. Por outro lado, 92% das novilhas tratadas no dia 5 do ciclo, ovularam.

O protocolo *Ovsynch* tem sido utilizado eficazmente em vacas de carne, apesar de revelar baixa fertilidade em novilhas. Isto tem sido atribuído à falência da primeira administração de GnRH na indução da ovulação do FD presente, resultando numa ausência de sincronização da emergência da onda folicular (Martinez et al., 2012).

A ovulação com a primeira administração de GnRH ocorre em 85% das vacas e em apenas 54% das novilhas. Além disso, 19% das novilhas revelam estro antes da administração da PGF_{2α}, tornando a IATF impossível (Martinez et al., 2001).

2.7.2 P₄ associada ao Ovsynch ou CO-Synch

Os resultados de um estudo efectuado por Lucy et al. (2001), envolvendo o CIDR para sincronização do estro de novilhas de carne estão resumidos na Tabela 13. Três grupos foram testados neste estudo: 1. Grupo controlo (que não foi submetido a qualquer protocolo); 2. Grupo em que foi administrada PGF_{2α}; 3. Grupo em que houve inserção do CIDR 7 dias e administração de PGF_{2α}, 6 dias após o CIDR (7-CIDR-PG).

Tabela 13: Taxas de sincronização e gestação de novilhas de carne em fase pré-púbere ou cíclica, quando tratadas com a PGF_{2α} ou através da inserção de CIDR e administração de PGF_{2α} (adaptado de Lucy et al., 2001).

	Taxa de sincronização (%)	Taxa de gestação (%)
Pré-púbere		
Controlo	7	6
PGF _{2α}	11	6
CIDR-PGF _{2α}	48	28
Cíclicas		
Controlo	17	9
PGF _{2α}	37	19
CIDR-PGF _{2α}	80	49
Total		
Controlo	22	13
PGF _{2α}	27	14
CIDR-PGF _{2α}	65	39

A proporção de novilhas que foram detectadas em estro durante os três primeiros dias da época reprodutiva foi aumentada com o programa 7-CIDR-PGF_{2α} relativamente aos grupos PGF_{2α} e controlo. O protocolo 7-CIDR-PGF_{2α} foi mais eficiente, quer nas novilhas pré-púberes, quer cíclicas, proporcionando taxas de gestação mais elevadas (Lucy et al., 2001). A explicação pode ser dada pela elevação de P₄, no início do período púbere. Este facto estimulou o crescimento folicular, que resultou posteriormente no aumento da produção de estrogénios pelos folículos (Patterson et al., 2013).

Os progestagénios iniciam o ciclo éstrico em novilhas de carne no período peri-púbere e estão associados à pulsatilidade aumentada de LH durante o período de tratamento. Estudos recentes sugerem que os efeitos estimulatórios na secreção de LH pela progesterona são maiores, após a sua remoção. Além disso, melhorias na resposta puberal com P₄ ocorrem com o aumento da idade (Patterson et al., 2013).

O incremento da libertação pulsátil de LH que ocorre em resposta aos tratamentos com progestagénios em novilhas pré-púberes, resulta numa diminuição dos receptores de

estrogénios, ao nível dos sistemas neuronais que modulam as acções de *feedback* negativo do E₂ sobre secreção de GnRH (Patterson et al., 2013).

Com base nesse conhecimento, a utilização da IA foi sendo aumentada nas novilhas de carne. Até então, existia uma grande reserva por parte dos produtores, já que as taxas de gestação eram muito baixas. Essa utilização alargada da IA em novilhas de carne veio exigir uma intervenção em tempo pré-determinado, com taxas de gestação superiores a 50 % (Patterson & Smith, 2007).

2.7.2.1 Utilização de acetato de melengesterol (MGA)

Este protocolo combina a utilização de MGA com PGF_{2α} e GnRH. A PGF_{2α} deve ser administrada 19 dias após a última administração de MGA. As novilhas devem receber, o MGA durante 14 dias, através da alimentação. Estes período de tempo pode variar em função do protocolo escolhido, mas a dose administrada deve ser consistente ao longo de todo o tratamento, sendo isto crítico para o sucesso. O tratamento coloca todos os animais em fase lútea tardia no momento da administração de PGF_{2α}, o que encurta o período de sincronização e melhora a taxa de concepção. Após 72 horas, é realizada a IA, com a administração simultânea de GnRH (Patterson et al., 2013).

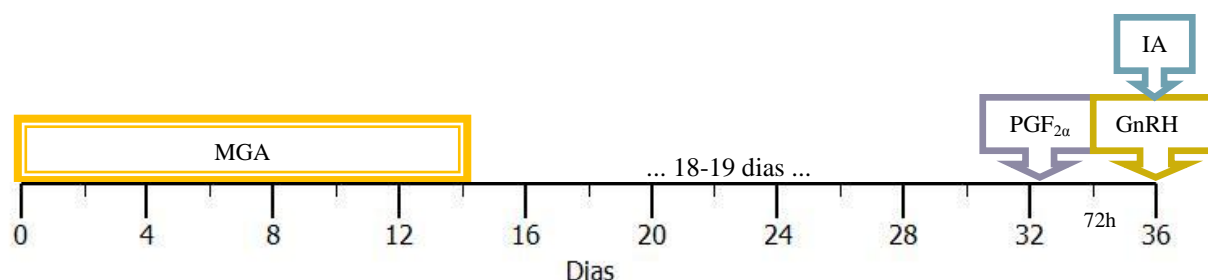


Figura 9: Esquema de pré-sincronização com MGA.

Além de controlar o aparecimento do estro, este protocolo tem a capacidade de induzir a puberdade em algumas novilhas em período peri-púbere (Lamb, Cartmill & Stevenson, 2004). Um dos inconvenientes é o tempo necessário para aplicação deste protocolo (Lamb et al., 2004). Para além desta desvantagem, os bovinos preferem a pastagem aos alimentos armazenados, durante a época de pastoreio. Por isto, existe dificuldade em garantir que cada novilha receba a quantidade de MGA necessária (Dahlen, Lamb, Zehnder, Miller & DiConstanzo, 2001).

Consequentemente, os produtores beneficiarão de um sistema de sincronização alternativo, mais curto e que não exija o recurso ao MGA (Lamb et al., 2004).

2.7.2.2 Utilização do CIDR

Têm sido realizados estudos em novilhas de carne para comparar as respostas éstricas e ovulatórias em protocolos baseados numa exposição longa ou curta ao CIDR, com base no seu potencial para a utilização bem sucedida da IATF (Leitman et al., 2008).

Um estudo levado a efeito por Busch et al. (2007) comparou dois protocolos, o *CO-Synch* + *CIDR* e o *CIDR Select*, esquematizados nas Figuras 10 e 11.

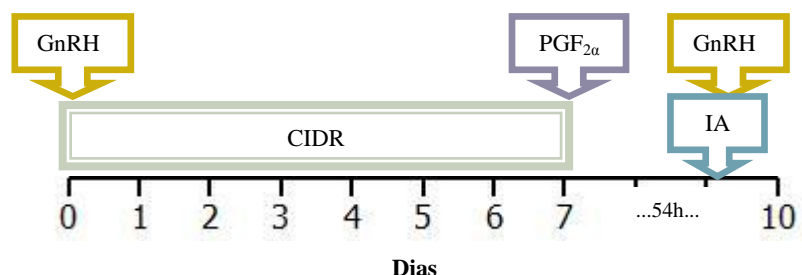


Figura 10: Ilustração esquemática do protocolo *CO-Synch* + *CIDR*.

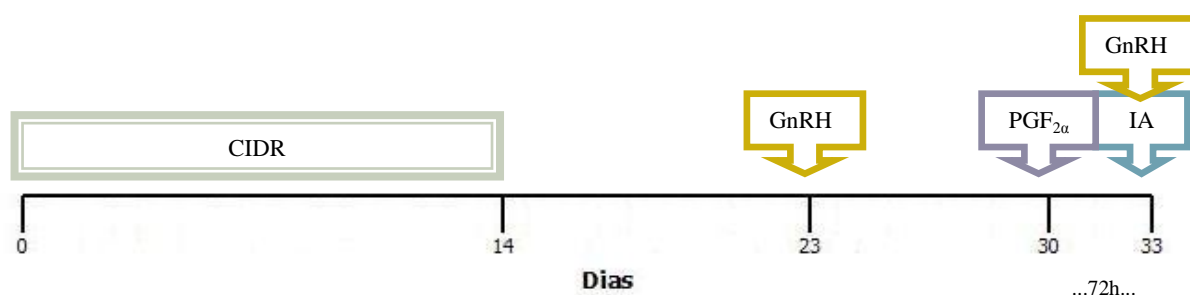


Figura 11: Ilustração esquemática do protocolo *CIDR Select*.

A hipótese testada foi a de que a pré-sincronização com P_4 antes da GnRH e $PGF_{2\alpha}$ produziria uma melhoria na sincronia do estro e ovulação em novilhas de carne, em comparação com um protocolo a curto prazo baseado na associação do CIDR a um protocolo *CO-Synch* (Busch et al., 2007). Essa associação ao *CO-Synch* foi pensada para contornar os seus problemas (a primeira GnRH não induz a formação de tecido lúteo em novilhas pré-púberes ou não é administrada no dia ideal, relativamente a fêmeas cíclicas). O CIDR foi inserido no momento da primeira administração de GnRH e removido no dia da administração da $PGF_{2\alpha}$ (Patterson & Smith, 2007).

Esta investigação concluiu que a pré-sincronização com P_4 antes do protocolo GnRH- $PGF_{2\alpha}$ é mais efectiva que a incorporação de P_4 no *CO-Synch*, sendo que as taxas de gestação foram de 62% e 47%, respectivamente. Também se concluiu que os dois protocolos são mais eficazes que a aplicação isolada de um protocolo GnRH- $PGF_{2\alpha}$ (Busch et al., 2007).

Embora o protocolo com uma longa exposição ao CIDR possa ser usado com sucesso para facilitar a IATF, uma das desvantagens da sua utilização é a necessidade de manusear os animais por cinco vezes (Mallory, Nash, Ellersieck, Smith & Patterson, 2011).

O estudo anterior, juntamente com outros, levou os cientistas a interrogarem-se acerca da necessidade da administração de GnRH no momento da inserção do CIDR. No entanto, era difícil testar esta hipótese em dois protocolos significativamente diferentes (Mallory et al.,

2011). Estes autores, compararam o *CIDR-Select* com o *Show-Me-Synch* (ou 14-d *CIDR-PGF_{2α}*) (Figura 12).

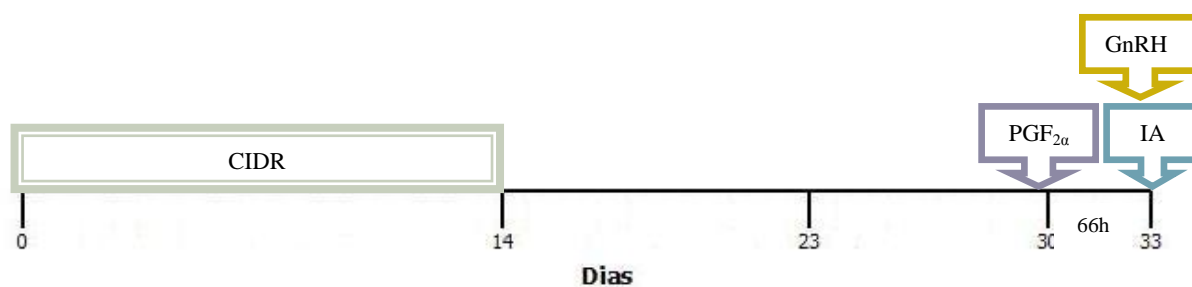


Figura 12: : Ilustração esquemática do protocolo *Show-Me-Synch*.

O intervalo de tempo entre a $\text{PGF}_{2\alpha}$ e a IATF utilizado no *Show-Me-Synch* baseou-se em estudos anteriores que relataram que o pico da demonstração de estro ocorre entre as 48 e 60 horas após a administração de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Mallory et al., 2011). Estes autores verificaram não existir diferenças nas respostas das novilhas, pré-púberes ou cíclicas, aos protocolos *CIDR Select* e ao *Show-Me-Synch* e que as taxas de gestação eram superiores no *Show-Me-Synch*. Isto veio apoiar o facto de que a GnRH não seria necessária para sincronizar o ciclo éstrico antes da IATF. Num estudo anterior, realizado por Leitman et al. (2009) verificou-se que a resposta à sincronização do estro em novilhas era superior nas fêmeas submetidas a um protocolo usando apenas CIDR e $\text{PGF}_{2\alpha}$, relativamente a outro que, para além destas hormonas, GnRH era administrada antes da $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Desde que foi sugerido que a maturação do folículo ovulatório e a probabilidade de concepção podem ser definidos pela duração do pró-estro, esse conhecimento foi utilizado para otimizar o protocolo *CO-Synch + CIDR* (Bridges & Day, 2013).

Verificou-se, comparando vacas com um pró-estro longo (54 horas) ou curto (30 horas) que o tamanho do folículo ovulatório não variava, nem a magnitude do pico de LH. No entanto, as fêmeas de pró-estro curto tinham tendência para uma menor concentração de P_4 e ciclos éstricos curtos. A diferença mais marcante foi a concentração de estradiol aumentada durante as 38 horas anteriores à GnRH, nos animais de longos pró-estros. Uma explicação lógica para esta diferença poderá ser o longo período de estimulação por pulsos de LH de elevada frequência. Outro factor que pode ter alguma influência é a capacidade estrogénica do folículo pré-ovulatório, em diferentes dias da onda de crescimento folicular. Tem sido relatado que a maior capacidade estrogénica do folículo em crescimento se verifica 4 dias após o dia de emergência folicular. Portanto, alongando o pró-estro e removendo a P_4 no momento em que a capacidade estrogénica do folículo é máxima, podem conseguir-se maiores concentrações no pico de LH e/ou prolongar a concentração máxima de estradiol durante esse período (Bridges & Day, 2013).

A duração do pró-estro com o tradicional *CO-Synch* + *CIDR* de 7 dias (7-*CO-Synch*+*CIDR*) variou entre 50 e 66 horas em vacas adultas, sem influenciar a taxa de gestação da IATF (Bridges & Day, 2013). No entanto, em fêmeas mais jovens (≤ 3 anos de idade), foram registradas taxas de gestação mais elevadas quando a IA era realizada às 56 horas (Kasimanickam, Asay, Firth, Whittier & Hall, 2012). Outros estudos reportaram que as taxas de gestação foram superiores quando o pró-estro durava de 54 a 66 horas. Na prática, a segunda GnRH e IA é realizada na maioria das vacadas entre as 54 e as 66 horas, após a $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Bridges & Day, 2013).

Por esta razão, formulou-se a hipótese de que a abordagem *CO-Synch* + *CIDR* poderia ser modificada de forma a aumentar o intervalo desde a administração de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e remoção do *CIDR* até à segunda GnRH, para que a taxa de gestação pudesse melhorar. Como tal, foi desenvolvido o 5-*CO-Synch*+*CIDR* (Bridges & Day, 2013).

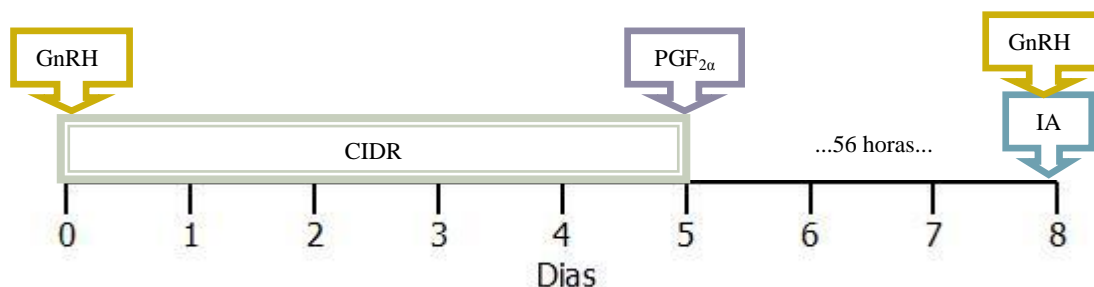


Figura 13: Ilustração esquemática do protocolo 5-d *CO-Synch* + *CIDR*.

Este protocolo tem melhorado a taxa de gestação relativamente ao 7-d *CO-Synch* + *CIDR*. Para tal têm sido recomendadas duas doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$, por altura da remoção do *CIDR*. Por agora, os autores ainda recomendam a primeira administração de GnRH, até que mais estudos sejam realizados (Day & Bridges, 2013).

A Tabela 14 resume a eficácia dos protocolos anteriormente descritos.

Tabela 14: Taxas de gestação em novilhas de carne após a sujeição a protocolos de sincronização para IATF, com recurso a P_4 (adaptado de Day & Bridges, 2013).

Protocolo	Horas recomendadas entre $\text{PGF}_{2\alpha}$ e IA	Taxas de gestação
7-d <i>CIDR-PG</i>	60	49 %
<i>CO-Synch</i> + <i>CIDR</i>	60	53%
<i>CIDR Select</i>	72	58%
14-d <i>CIDR-PG</i>	66	65%
5-d <i>CIDR-PG</i> (2 x $\text{PGF}_{2\alpha}$)	60-66	62%

2.8 Vacas

O anestro continua a deter o maior contributo para a infertilidade das vacadas de carne, dado uma proporção significativa dessas fêmeas ainda não estar cíclica, no início da época de reprodução (Lamb et al., 2001).

2.8.1 Protocolos *Ovsynch* e *CO-Synch*

Dos protocolos de sincronização do estro ou da ovulação mais utilizados actualmente em vacas de carne, o *CO-Synch* tende a ser o mais económico e menos trabalhoso. Uma das desvantagens deste protocolo é que aproximadamente 10 a 20% das vacas de carne exibem comportamento de estro antes ou imediatamente após a administração da $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Lamb et al., 2001). Estas vacas são provavelmente as que se encontram na fase final do ciclo éstrico quando o protocolo é iniciado (Geary et al., 2000).

2.8.2 P_4 associada ao *Ovsynch* ou *CO-Synch*

Um estudo realizado por Lucy et al. (2001) testou a resposta de vacas à administração de $\text{PGF}_{2\alpha}$ isoladamente ou à associação 7-CIDR- $\text{PGF}_{2\alpha}$. Os resultados encontram-se na Tabela 15.

Tabela 15: Percentagem de vacas em estro e taxa de gestação (adaptado de Lucy et al., 2001).

Anestro	Taxa de sincronização (%)	Taxa de gestação (%)
Controlo	11	4
$\text{PGF}_{2\alpha}$	19	11
CIDR- $\text{PGF}_{2\alpha}$	45	26
Cíclicas		
Controlo	19	11
$\text{PGF}_{2\alpha}$	49	34
CIDR- $\text{PGF}_{2\alpha}$	72	46

Com este estudo, fica demonstrado que vacas anéstricas não respondem tão bem quanto as cíclicas à sincronização do ciclo éstrico e à IA. A inserção do CIDR melhorou as taxas de sincronização, nos primeiros 3 dias após a administração de $\text{PGF}_{2\alpha}$, resultando em taxas de gestação superiores (Lucy et al., 2001).

2.8.3 Indução hormonal da ciclicidade em vacas anéstricas

2.8.3.1 Com GnRH

Uma única administração de GnRH, entre os dias 21 e 31 pós-parto, pode induzir um aumento de LH e ovulação, em vacas de carne. Da mesma forma, duas administrações de GnRH com 10 dias de intervalo, induziram a ovulação e a ciclicidade, neste tipo de fêmeas. A longevidade do CL induzido pela GnRH é geralmente inferior à de uma ovulação espontânea (Lamb et al., 2010).

A GnRH é capaz de induzir a ovulação do primeiro FD pós-parto quando detectado por ecografia transrectal, em vacas de carne. Este tipo de terapêutica inicia uma regressão dos grandes folículos ou promove a ovulação do FD, quando este atinge um estágio adequado de

maturação. Para além disto, inicia a emergência de uma nova onda de crescimento folicular (Stevenson et al., 2000).

2.8.3.2 Com progestagénios

Vários estudos têm verificado que uma pré-sincronização com P₄ prolonga a duração do CL induzido no pós-parto das vacas acíclicas. Assim, a P₄ exógena previne os ciclos curtos que se seguem às primeiras ovulações (Lamb et al., 2010).

A inclusão do CIDR no procedimento *CO-Synch* (*CO-Synch* + *CIDR*) parece ser o método alternativo mais procurado para a sincronização de vacas de carne (Lamb, 2010).

Um estudo recente comparou a eficácia de um protocolo de longa duração (*Show-me-Synch*; ver Figura 12) com um de curta duração (7-d *CO-Synch* + *CIDR*) de exposição à P₄. Ambos os protocolos foram efectivos na sincronização do estro em populações mistas de vacas cíclicas ou anéstricas, no período pós-parto. No entanto, o protocolo *Show-me-Synch* pode revelar vantagem relativamente, aos protocolos de curta duração, em cenários com muitas vacas em anestro. Este protocolo demonstrou elevada eficácia na sincronização do ciclo éstrico antes da IATF em vacas de carne, no período pós-parto, garantindo pois, uma alternativa aos clássicos protocolos de curta duração. Para além disso, os protocolos de longa duração fornecem uma oportunidade para combinar a profilaxia da vacada e reprodução, num único passo. Esta estratégia baseia-se na recomendação da vacinação, no mínimo 30 dias antes da época de reprodução, fazendo-a coincidir com o início do protocolo *Show-me-Synch* (ver Figura 12) (Nash et al., 2012).

Tal como nas novilhas (ver 2.7.2.2), foi estudada a possibilidade de nas vacas, prolongar a duração do pró-estro e retirar a P₄, no momento de maior capacidade estrogénica do FD, através do 5-d *CO-Synch* + *CIDR*. Nas experiências iniciais, duas doses de PGF_{2α} foram administradas, a primeira em simultâneo com a remoção do CIDR e a segunda 12 horas depois. Esta abordagem foi decidida devido ao intervalo de tempo relativamente curto entre a GnRH e a PGF_{2α} já que era questionável que o CL acessório regredisse em todas as vacas, com uma única administração de PGF_{2α} (Bridges & Day, 2013).

Um primeiro ensaio comparou os protocolos 7-d com o 5-d *Select Synch* + *CIDR* e, as vacas foram inseminadas após observação do estro. A resposta éstrica e o intervalo para a sua manifestação, não diferiram entre os protocolos, tal como as taxas de concepção e de gestação. Na segunda experiência, utilizando exclusivamente a IATF, compararam-se os protocolos 7-d e 5-d *CO-Synch* + *CIDR*, com IA às 60 horas após a remoção do CIDR. Com esta duração do pró-estro (60 horas), as taxas de gestação não diferiram em ambos os protocolos. Nos dois estudos finais, o intervalo do pró-estro foi prolongado das 60 para as 72 horas, na abordagem dos 5 dias de exposição à P₄. Esta modificação permitiu uma

maximização das concentrações pré-ovulatórias de E_2 e assim as taxas de gestação aumentaram, quer nas vacas cíclicas, quer nas anéstricas (Bridges & Day, 2013).

Embora a abordagem *5-d CO-Synch* tenha demonstrado ser um protocolo superior para facilitar a IATF em vacas de carne, a manipulação adicional para administração da segunda dose de $PGF_{2\alpha}$, 12 horas após a remoção do CIDR, limita a sua aceitação por alguns produtores. Ficou demonstrada a necessidade da dupla administração de $PGF_{2\alpha}$, já que as taxas de gestação diminuíram, quando era administrada apenas uma única dose. Além disso, verificou-se que uma única administração de $PGF_{2\alpha}$ não era eficaz na indução da luteólise em todas as vacas. Por seu turno, registou-se adicionalmente que administrando as duas doses em simultâneo aquando da remoção do CIDR, as taxas de gestação não se alteravam em comparação com a dupla administração em separado. Ou seja, em termos práticos, é necessária uma dose de 50 mg de $PGF_{2\alpha}$ (2 x 25mg) quando o CIDR é retirado (Bridges & Day, 2013).

2.8.3.3 Com eCG

Uma única administração de eCG pode estimular a secreção de estradiol, o pico de LH e a ovulação, em vacas de carne (Lamb et al., 2010). Da mesma forma, uma única administração de gonadotrofina coriónica humana (hCG), 19 dias após o parto, resulta na formação de um CL em 40 a 82% de vacas, mas apenas 25% dos CL têm uma longevidade normal (Lamb et al., 2010).

A aplicação de eCG no momento de remoção de um dispositivo de P_4 tem sido extensivamente utilizado em vacadas de carne com alta incidência de anestro pós-parto (Bó, Baruselli & Mapletoft, 2013).

Provavelmente o efeito mais importante da eCG é a estimulação do crescimento do FD, o que consequentemente aumenta a taxa de ovulação, especialmente em vacas em anestro pós-parto e/ou com fraca CC (Bó et al., 2013). A análise de 9668 IATF demonstrou que animais tratados com dispositivos de P_4 devem ter uma CC superior a 2,5 (escala de 1 a 5) e idealmente, igual ou superior a 3 para se alcançarem taxas de gestação iguais ou superiores a 50% (Bó, Cutaia, Peres, Pincinato, Maraña & Baruselli, 2007, citados em Bó et al., 2013). É muito importante notar que esses resultados foram alcançados somente quando as vacas estavam a ganhar CC, durante a época de reprodução. Se as condições não permitirem a melhoria da CC, durante esse período, as taxas de gestação mais prováveis serão iguais ou inferiores a 35%, mesmo após a administração de eCG (Bó et al., 2013).

3. FACTORES QUE CONDICIONAM A EFICÁCIA DA IA

3.1 A IA

A IA é uma das técnicas reprodutivas mais importantes para o melhoramento genético de animais de produção. No início foi extremamente eficiente ao evitar a transmissão de doenças

venéreas, ao eliminar o contacto físico entre os animais. Hoje, constitui uma ferramenta amplamente utilizada em programas de reprodução nas explorações pecuárias e, resumidamente, consiste num processo de recolha de sémen do macho, posterior processamento, armazenagem e introdução instrumental no aparelho reprodutivo da fêmea, com o objectivo de concepção (Morrel, 2011).

A primeira experiência bem sucedida com a IA em animais foi efectuada por Lazzaro Spallanzani em 1780. Este fisiologista italiano trabalhava em reprodução animal quando desenvolveu uma técnica para IA em cães. Esta abordagem foi melhorada na década de 1930, na Rússia, com o subsequente desenvolvimento de métodos de criopreservação (conservação através da congelação) do sémen, o que levou a uma disseminação da técnica à escala mundial (Morrel, 2011).

A introdução da IA em animais de produção foi forçada por razões sanitárias e as primeiras aplicações em larga escala, com um objectivo comercial, foram realizadas em bovinos, no final da década de 1930. Após a Segunda Guerra Mundial, a criopreservação de sémen facilitou a sua distribuição e a IA começou a ser utilizada principalmente por razões económicas, especialmente em efectivos de bovinos de leite (Verberckmoes et al., 2004).

Existem registos da utilização desta técnica em Portugal desde 1942. Nos primeiros anos, era apenas utilizado sémen fresco e, em 1966 começou a ser distribuído e aplicado sémen congelado. A utilização da IA tem vindo a aumentar desde a sua implementação no país e, tal como no resto do mundo, é mais utilizada em bovinos de leite (Durão, 1994).

A IA é praticada em muito menor percentagem em bovinos de carne comparativamente aos bovinos de leite porque há dificuldades na detecção dosaios e na separação individual de vacas, devido ao normal regime extensivo em que estes animais são explorados. Para contornar a primeira situação, é muito utilizada a IATF, com recurso a protocolos hormonais que sincronizam a ovulação. Ainda assim, o recurso a estas técnicas não significa necessariamente redução do número de touros da vacada. O serviço natural é normalmente necessário 2-3 semanas após as inseminações, em virtude dos retornos ao cio (Gordon, 1996c).

Apesar das aparentes desvantagens, a IA permite ao criador alcançar características que não são acessíveis através do serviço natural e que podem ser atingidas através da utilização do sémen de touro testado, como por exemplo, facilidade ao parto ou maior índice de crescimento (Gordon, 1996d). Desta forma, o melhoramento genético e uma maior produtividade são possíveis através desta técnica, quando se usa sémen de machos com elevado mérito genético em fêmeas superiores (Costa et al., 2011).

A IA também permite o cruzamento entre animais em diferentes localizações geográficas e em diferentes registos temporais (mesmo após a morte do macho) (Costa et al., 2011).

Para além disto, uma das vantagens mais importantes da IA é a substancial redução da propagação de doenças infecciosas ou contagiosas que podem ocorrer quando os animais se encontram em contacto próximo ou partilham o mesmo ambiente (como por exemplo, tuberculose, brucelose e paratuberculose) e / ou doenças venéreas (como por exemplo a campilobacteriose, provocada por *Campylobacter fetus* ssp. *venerealis* (vibriose) e a tricomoniase (Verberckmoes et al., 2004; Costa et al., 2011).

3.1.1 A técnica

Nos ruminantes, a deposição de sémen durante a cópula é feita na vagina. Na espécie bovina, é possível conduzir um *pistolet* de inseminação através do cérvix, permitindo que o sémen seja depositado no útero. As vantagens da deposição do sémen no útero têm a ver com o menor trajecto que os spz irão percorrer até chegar ao oviducto (local da fecundação; mais precisamente na junção entre o istmo e a ampola; ver Figura 14) e ao menor desperdício deste, perdido por refluxo. Assim, um menor volume de sémen pode ser usado por acto de inseminação relativamente à deposição intravaginal do touro, facto que permite que o ejaculado possa ser dividido em múltiplas doses para posterior IA e, o cérvix, que pode ser encarado como uma barreira à progressão dos spz, é, por esta via, evitado (Costa et al., 2011).

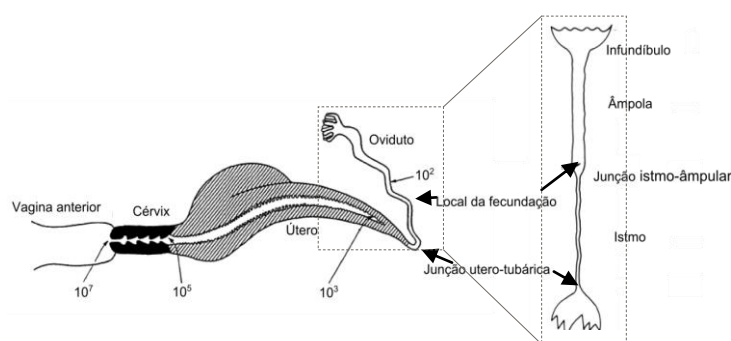


Figura 14: Diagrama representativo do aparelho genital da vaca com representação linear ampliada do oviducto. 10^7 , 10^5 , 10^3 e 10^2 representam a diminuição abrupta do número de espermatozoides após a cobrição da fêmea entre a vagina e o local da fecundação no oviducto (adaptado de Hunter, 2001).

Para que a fecundação ocorra, a inseminação deve ser efectuada num momento adequado do ciclo éstrico da vaca. Os spz bovinos requerem algumas horas de permanência no aparelho sexual feminino para que se possam tornar aptos à fertilização. Eles mantêm-se viáveis neste ambiente, durante aproximadamente, 24 horas. É mais provável que o oócito (gâmeta feminino) seja fertilizado, se o seu contacto com espermatozoides viáveis ocorrer cerca de 6 horas após a ovulação. O gâmeta feminino é viável, no máximo, por 12 horas. Por isto, a oportunidade da IA deve ser bastante precisa, sendo o momento óptimo, 12 a 24 horas após o início dos sinais de estro. Isto garante que os gâmetas masculinos cheguem ao lugar da fecundação algumas horas antes da ovulação, que geralmente ocorre, 30 horas após o início do cio (Ball & Peters, 2004a).

Em 1940, a inseminação cervical foi substituída pelo método recto-vaginal de inseminação ou método de fixação cervical, processo que envolve a fixação do cérvix através do recto. Este método provou ser mais eficiente e foi rapidamente adoptado como técnica padrão pela indústria bovina (Gordon, 2004c).

Para a sua execução, o técnico deve proteger a mão e braço esquerdo com uma luva de canhão comprido, previamente lubrificada (Chagas e Silva, 1985). Recomenda-se a utilização da mão esquerda no recto para manipulação do tracto reprodutivo e, a mão direita para a condução do *pistolet*. Isto porque o rúmen da vaca situa-se do lado esquerdo, desviando ligeiramente para o lado direito o sistema reprodutor (Figura 15) (Dejarnette & Nebel, n.d.a).

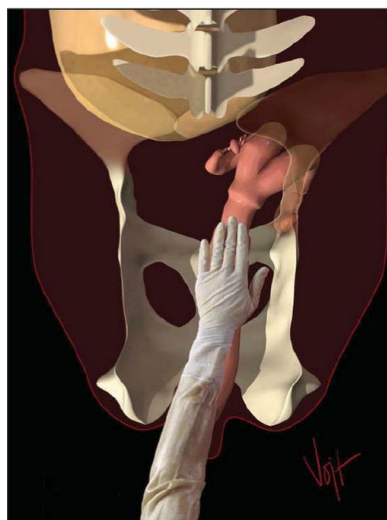


Figura 15: Representação da palpação transrectal do útero (Dejarnette & Nebel, n.d.a).

A mão é introduzida no recto, adoptando a forma de concha. A progressão é feita após o relaxamento do esfíncter anal. Depois, fazer a limpeza do recto, retirando as fezes. A mão direita deve empunhar o *pistolet* devidamente montado e, os toalhetes de papel para assegurarem a limpeza da vulva antes da sua introdução, de modo a evitar contaminação (Chagas e Silva, 1985).

Com a mão esquerda, deve localizar-se o cérvix e fixá-lo (Chagas e Silva, 1985). Existem muitas formas de o fazer. O inseminador poderá usar a que lhe for mais conveniente, dependendo da força da sua mão, do tamanho do cérvix e do tenesmo para expulsar a mão do recto. Provavelmente, o mais utilizado é o método em que se rodeia o cérvix com o polegar e os restantes dedos (Anónimo, n. d. a). O cérvix é muitas vezes descrito como tendo o tamanho e consistência de um pescoço de peru (Dejarnette & Nebel, n.d.a). Com o cérvix fixo, limpam-se os lábios da vulva e introduz-se a extremidade do *pistolet* para cima e para diante, com uma inclinação de aproximadamente 40°, até contacto com o braço esquerdo. Isto é necessário para evitar que o *pistolet* penetre no divertículo suburetral ou no meato urinário, localizados pavimento vaginal (Chagas e Silva, 1985; Dejarnette & Nebel, n.d.a).

Depois, deve endireitar-se o *pistolet* e introduzi-lo até que a sua extremidade contacte com a porção posterior e externa do cérvix. O cérvix ou colo do útero tem geralmente três ou quatro anéis ou pregas. A sua abertura posterior projecta-se para dentro da vagina. Isto forma um fundo cego de 360° em torno da abertura do cérvix (óstio externo) (DeJarnette & Nebel, n. d.a).

Para ultrapassar esta dificuldade, deve fixar-se o cérvix pelo terço posterior, eliminar o fundo de saco vaginal e conduzir a extremidade do *pistolet* para a entrada da flor desabrochada (óstio externo do útero) (Figura 16).

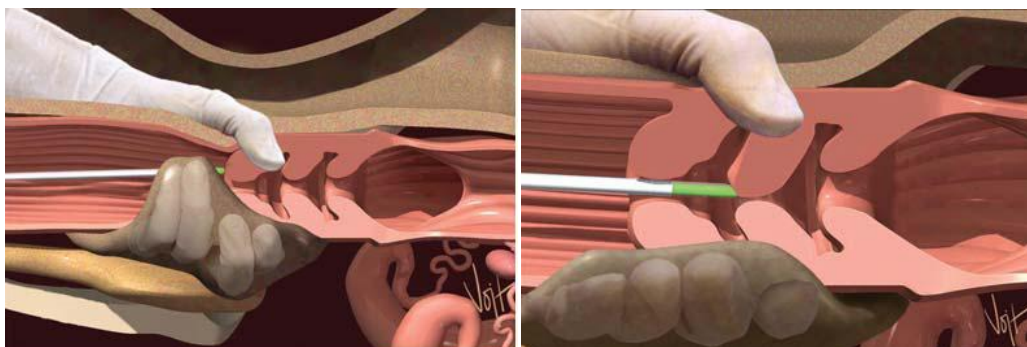


Figura 16: Entrada do *pistolet* no cérvix e passagem deste através das pregas (Dejarnette & Nebel, n.d.a).

Com a mão esquerda, deve manipular-se o cérvix cuidadosamente em todas as direcções e tentar a progressão fácil do *pistolet*, através do canal cervical. Desta forma, ultrapassam-se as pregas do cérvix e diminui-se a possibilidade de traumatismo (Figura 16) (Chagas e Silva, 1985).

Depois de ultrapassadas as pregas do cérvix, o *pistolet* desliza para a frente, com pouca resistência. Como a parede uterina é fina, é possível sentir com clareza o *pistolet* (DeJarnette & Nebel, n. d.a). Quando se chega à entrada do útero, detém-se o instrumento e faz-se a deposição na totalidade do sémen nesse local, lentamente, durante um período de 5 segundos (Figura 17) (Chagas e Silva, 1985).

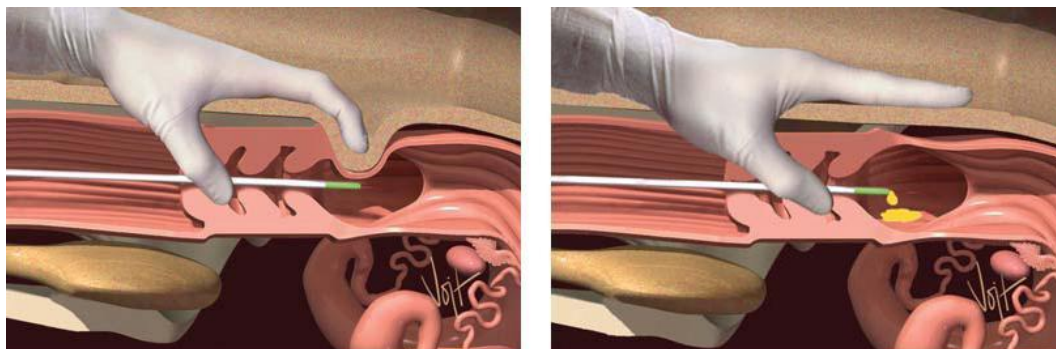


Figura 17: Entrada do *pistolet* no corpo do útero e colocação lenta de gotas de sémen na entrada deste (Dejarnette & Nebel, n.d.a).

Retira-se, por fim, o *pistolet* e o braço, com suavidade e sem movimentos bruscos (Chagas e Silva, 1985).

Através desta técnica, o sémen é colocado no corpo do útero e, posteriormente, os spz serão transportados, através da sua mobilidade própria, para os cornos uterinos e oviductos com uma boa distribuição por ambos (Dejarnette & Nebel, n. d.a).

Além da técnica convencional anteriormente descrita, existe outra em que a deposição do sémen é realizada mais perto do oviducto, no corno uterino ipsilateral ao ovário onde vai ocorrer a ovulação. Esta técnica pode ser uma alternativa para se obterem taxas de concepção aceitáveis com doses seminais de baixa concentração (como por exemplo sémen sexado) ou com um sémen de fraca qualidade. A deposição do sémen perto da junção útero-tubárica resulta numa diminuição da perda de espermatozóides pelo fluxo retrógrado do muco cervical, diminui a fagocitose durante a progressão através do útero e aumenta o tempo de sobrevivência dos spz no istmo (local que serve como reservatório antes da fecundação – ver Figura 14) (Verberckmoes et al., 2004). Apesar de Senger et al. (1988), López-Gatius (1996) e Pursley (2004), citados em Dalton, Nadir, Noftsinger & Saacke (2012) terem registado uma melhoria nas taxas de concepção quando o sémen é depositado no corno uterino, Hawk e Tanable (1986), Williams *et al.* (1988) e McKenna *et al.* (1990), citados em Dalton *et al.* (2012) não registaram diferenças na fertilidade quando o sémen é depositado à entrada do útero ou no corno uterino.

Após a deposição do sémen, é vantajosa a massagem do clitóris (Gordon, 1996c). Esta estimulação é feita normalmente, durante 15 a 30 segundos, após a inseminação. Isto promove o aumento do lúmen do cérvix, permitindo a passagem mais fácil dos espermatozóides e estimula a libertação de oxitocina, que aumenta as contracções do útero em direcção ao oviducto. Para além de aumentar a taxa de gestação, este procedimento também acelera a libertação de LH, o que leva a uma ovulação mais precoce relativamente aos animais não estimulados (Bozkurt, Türk & Gür, 2007).

3.1.2 O inseminador

O inseminador desempenha um papel muito importante na fertilidade de um dado efectivo sujeito à IA. Desde a manipulação do sémen congelado à sua aplicação, é o inseminador o responsável por qualquer quebra na fertilidade, uma vez que o sémen já ultrapassou todos os testes e provas até então realizadas, estando apto para a inseminação de uma fêmea saudável (Durão, 1994).

O recurso ao sémen congelado na IA tem sido feito em larga escala desde 1965 (Verberckmoes et al., 2004). As palhinhas são pequenos tubos cilíndricos onde o sémen é acondicionado. É o método mais utilizado porque são de fácil armazenamento, isolam o sémen de possíveis contaminações a partir do azoto líquido, a congelação é rápida e fácil e permite um aumento da taxa de fertilidade quando comparado a outros métodos de acondicionamento. A descongelação da palhinha deve ser muito rápida, para impedir a

recristalização da água no interior dos espermatozóides. O tempo que o inseminador leva desde a remoção da palhinha do contentor de azoto líquido até à sua introdução no banho-maria a 35-37°C, deve ser o menor possível (3 a 5 segundos). Aí, a mini-palhinha (capacidade de 0,25 mL) permanece 7 segundos ou 25 segundos, no caso da palhinha média (capacidade de 0,50 mL), após os quais poderá ser acondicionada na cânula de inseminação (o *pistolet* universal, por exemplo) com o cuidado necessário. Por fim, faz-se a deposição do sémen em local adequado do aparelho reprodutor da fêmea bovina em cio (Durão, 1994).

O inseminador também tem por função depositar de forma correcta o sémen no aparelho genital da fêmea (ver 3.1.1) (Chagas e Silva, 1985). A habilidade e experiência do inseminador desempenham aqui um papel de extrema importância (Durão, 1994). Machpherson (1968), citado em Dalton et al. (2012), relatou que a inseminação cervical resulta numa diminuição de 10% da fertilidade quando comparada com a deposição de sémen no corpo uterino. Num estudo com 40 inseminadores, Peters et al. (1984), citado em Russi, Costa e Silva & Zúccari (2009) demonstraram, através de radiografias, que aproximadamente um terço dos inseminadores depositaram o sémen no interior do cérvix, evidenciando a necessidade de treino. Claramente, todos os técnicos de IA devem desenvolver habilidade suficiente para reconhecer quando a ponta do *pistolet* permanece no cérvix (Dalton et al., 2012).

Para além desta função, o inseminador é o responsável pelo material e equipamento necessários à sua actividade rotineira (higiene, desinfectação e reposição). É igualmente ele que se encarrega de vigiar o nível de azoto líquido do contentor de azoto, medindo-o com relativa frequência e, quando necessário, deverá reabastecê-lo (Durão, 1994).

Em quase todos os Centros de IA existem diferenças marcadas de eficácia entre os vários inseminadores ao serviço, em termos das taxas de gestação (De Kruif, 1978; Durão, 1994). Estas diferenças podem oscilar, muitas vezes, entre 5 e 10%. Um único inseminador pode num dado momento, evidenciar uma diminuição acentuada da sua eficácia. A experiência tem demonstrado que esta situação está geralmente associada a problemas de índole privada (De Kruif, 1978).

O efeito do estado emocional sobre o desempenho dos inseminadores foi apresentado no estudo de Cembrowicz (1964), citado em Russi *et al.* (2009). O autor observou que o estado emocional influenciou a taxa de não retorno ao cio após as inseminações, sendo que, quando um inseminador encontrava-se muito preocupado com algum problema, a taxa de não retorno ao cio ficava abaixo da média esperada, resultando em comprometimento da eficiência da técnica.

No estudo de Miller (1991), citado em Russi *et al.* (2009), foram encontradas correlações significativas entre as taxas de concepção e a personalidade do inseminador, com os melhores resultados sendo observados em indivíduos mais tranquilos.

O desempenho dos inseminadores também pode ser afectado pelo sugestionamento. Num estudo realizado por Umland (1983), citado em Russi *et al.* (2009), os inseminadores foram sugestionados quanto à baixa fertilidade de determinadas palhinhas de sémen e isto acarretou diminuição do desempenho, principalmente dos profissionais de baixo aproveitamento. As palhinhas marcadas como sendo de qualidade superior geraram taxas de não retorno superiores às aquelas marcadas como sendo de qualidade inferior, sugerindo que, para alguns profissionais, a confiança na qualidade do sémen é muito importante.

Lamont e Foulkes (1981), citados em Russi *et al.* (2009), avaliaram as diferenças no desempenho reprodutivo entre explorações que utilizavam inseminadores profissionais ou inseminadores próprios da exploração e constataram que a utilização destes últimos resultou num maior índice de serviço (1,9 versus 1,4 doses/concepção) e num maior número de animais não gestantes. Resultados semelhantes foram encontrados por Schermerhorn *et al.* (1986), citados em Russi *et al.* (2009), ao verificarem que as explorações que utilizavam inseminadores próprios apresentavam maior IEP do que aquelas que utilizavam inseminadores profissionais. Estes resultados reforçam a importância da capacitação dos inseminadores, particularmente daqueles que realizam serviços nas explorações, uma vez que a falta de acesso a cursos de treino e qualificação pode determinar resultados inferiores, comprometendo o programa de inseminação.

Além disso, a confiança na técnica de inseminação utilizada também parece ser importante. No estudo de Russi (2008), citado em Russi *et al.* (2009), observou-se que, em programas de IATF em bovinos de carne, inseminadores que não acreditavam na eficiência desta técnica obtiveram taxas de gestação inferiores às aquelas dos que acreditavam.

A reciclagem também é importante, pois aumenta a habilidade e a autoconfiança do inseminador (King e MacPherson, 1965; Senger *et al.*, 1988, citados em Russi *et al.*, 2009). Fernandes Jr. (2001), citado em Russi *et al.* (2009), observou que as variáveis: habilidade, curso de IA e reciclagens geraram diferenças significativas entre os resultados dos inseminadores, medidos pela taxa de gestação à primeira inseminação, reforçando assim, a necessidade de actualizar todo o processo de inseminação, periodicamente.

Outro factor relevante é o cansaço do inseminador, especialmente quando se utilizam programas de IATF. No estudo de Costa-e-Silva *et al.* (2004), citados em Russi *et al.* (2009) os autores verificaram que algumas manifestações indicativas de cansaço ocorriam antes de o inseminador solicitar sua substituição, ou seja, antes de ele verbalizar o desconforto, o que poderia determinar uma queda no rendimento profissional. Além disso, não se pode esquecer

de que as relações interpessoais no ambiente de trabalho podem promover alguma intimidação, fazendo com que o indivíduo evite demonstrar determinados comportamentos para não ser recriminado pelos colegas.

O comprometimento também é um componente importante que pode interferir no desempenho destes profissionais. Segundo Fernandes Jr. (2001), citado em Russi *et al.* (2009), inseminadores com maior comprometimento afectivo obtiveram melhores taxas de gestação (85%) que aqueles que apresentaram comprometimento apenas por razões económicas (68%), sugerindo que a qualidade de vida e, conseqüentemente, a produtividade, está mais relacionada com a satisfação com o trabalho propriamente dito do que com o ordenado, evidenciando que os trabalhadores precisam de mais do que melhores ordenados para que efectivamente sejam motivados (Tang, 2007, citado em Russi *et al.*, 2009).

3.1.3 Tempo entre a descongelação da palhinha e a deposição do sémen

A descongelação do sémen a temperaturas adequadas, de acordo com as recomendações do Centro de IA responsável pelo processamento das doses seminais, é necessária para maximizar a sobrevivência e a mobilidade dos espermatozóides pós-descongelamento (Costa *et al.*, 2011).

É muito importante manter a temperatura da palhinha que contém o sémen a 35°C até a sua deposição sémen no aparelho genital da fêmea (Dejarnette & Nebel, n.d.b). A maior preocupação após a descongelação ter ocorrido é o choque térmico pelo frio. Este provoca lesões irreversíveis nos espermatozóides, e pode ocorrer quando o sémen é descongelado em banho-maria e, posteriormente, sujeito a temperaturas ambientais baixas, ainda antes da IA. A gravidade dos danos depende da taxa e a extensão da queda da temperatura. Isso resulta em perda de mobilidade, actividade metabólica e potencial de fertilização e acredita-se, que envolve alterações irreversíveis na membrana plasmática externa (Nebel, 2007).

Para se avaliar o efeito da temperatura ambiental sobre o sémen após a sua descongelação, realizou-se um estudo avaliando as temperaturas ambientais de 21°C, 4°C e 16°C. A descongelação das palhinhas foi feita em banho-maria a 35°C. Verificou-se que a descida de temperatura do sémen quando a palhinha era sujeita a 21°C após descongelação, variava entre 3 e 6°C. Por outro lado, com temperaturas ambientais de 4 e 16°C, a descida da temperatura seminal era de aproximadamente 15 e 20°C, respectivamente (Nebel, 2007).

Para manter constante a temperatura, o *pistolet* de inseminação deve estar à mesma temperatura do sémen ou mesmo, um pouco mais quente. Isto consegue-se friccionando-o com um toalhete de papel ou um pano limpo, antes da descongelação e cobrindo a ponta do *pistolet* (onde se encontra a palhinha com o sémen), após o procedimento de montagem (Chagas e Silva, 1985; Dejarnette & Nebel, n.d.b).

Para além do anteriormente referido, não se deve descongelar mais do que uma dose de cada vez. Isto evita que as doses de sémen permaneçam muito tempo na água morna e, também que a temperatura do banho-maria atinja valores inferiores aos recomendados (Chagas e Silva, 1985). Porém, Dalton *et al.* (2004), citados em Dalton *et al.* (2012) realizaram um trabalho de campo para determinar o efeito da descongelação de várias palhinhas médias em simultâneo e da sequência de inseminação (1ª, 2ª, 3ª e 4ª) na taxa de concepção. A taxa média de concepção não diferiu entre as diferentes sequências de inseminação, nem no tempo desde a descongelação do sémen até à sua deposição.

O sémen só deve ser descongelado quando não houver nenhum impedimento à realização da IA e, deverá ser utilizado imediatamente após a descongelação (Chagas e Silva, 1985). O tempo entre a descongelação e a deposição do sémen no aparelho genital da vaca não deve exceder os 10 minutos (Costa et al., 2011). Segundo outros autores, este intervalo deve ser no máximo de 15 minutos (Nebel, 2007; Dalton et al, 2012).

Quando for necessário transportar o sémen do contentor de trabalho até à vaca, percorrendo-se uma distância considerável, o sémen deve ser transportado em banho-maria e, aplicado nos 10 minutos seguintes. No entanto, é preciso reter que esta situação deve ser considerada como excepional (Chagas e Silva, 1985).

No caso do sémen sexado, cuja fertilidade é inferior à do sémen convencional, o intervalo de tempo entre a descongelação e a deposição do sémen deve ser, no máximo, de 5 minutos (Costa et al., 2011).

3.2 Factores ambientais

3.2.1 Stress térmico

As temperaturas extremas, a radiação solar directa e indirecta e a humidade são factores ambientais de *stress* que causam perturbação nos animais (Silanikove, 2000). O *stress* térmico pode ser definido como o somatório das forças externas que agem sobre um animal homeotérmico e deslocam a sua temperatura (num ou noutro sentido), estando ele em estado de repouso (Paula-Lopes, Lima, Risolia & Ispada, 2012). Apesar de terem os mecanismos de termorregulação bem desenvolvidos, os ruminantes não mantêm estrita homeotermia sob o *stress* térmico. Há evidência de que a hipertermia é nociva para qualquer forma de produtividade, independentemente da raça e da adaptabilidade. O efeito mais reconhecido da temperatura corporal elevada é a depressão na taxa metabólica, associada à falta de apetite (Silanikove, 2000), podendo afectar de forma indirecta a reprodução. Demonstrou-se que as concentrações de insulina, IGF-1 e glucose estão diminuídas nos meses de Verão, comparativamente aos de Inverno, provavelmente devido a uma diminuição da ingestão (De Rensis & Scaramuzzi, 2003).

O calor do Verão tem sido reconhecido como redutor da produtividade e da eficiência reprodutiva em bovinos. Os impactos do *stress* hipertérmico sobre a eficiência reprodutiva têm sido documentados e revistos. Altera a duração do estro, a qualidade do colostro, as taxas de concepção, as funções uterinas, o estado do sistema endócrino, o crescimento folicular e o desenvolvimento dos mecanismos luteolíticos e, os desenvolvimentos embrionário precoce e o fetal. Embora a estação do ano também possa influenciar os perfis endócrinos e a fertilidade dos machos, o impacto sobre a fertilidade masculina pode ser contornada através da IA (Jordan, 2003).

O mecanismo através do qual o *stress* hipertérmico altera a concentração das hormonas reprodutivas em circulação não é bem conhecido. O aumento de corticosteróides foi sugerido como inibidor da secreção de GnRH e LH. Também se especulou que pode actuar directamente sobre ovário, diminuindo a sua sensibilidade à estimulação gonadotrófica (De Rensis & Scaramuzzi, 2003).

No que se refere ao padrão de secreção de LH de vacas sujeitas a *stress* hipertérmico, verificou-se que diminui a amplitude e frequência dos pulsos de LH, apesar de estes dados serem controversos. Foi sugerido que as diferenças na secreção de LH estão relacionadas com os níveis pré-ovulatórios de estradiol, pois a amplitude dos pulsos e o pico pré-ovulatório de LH diminuem em vacas com concentrações diminuídas de estradiol, mas não em vacas com concentrações elevadas de estradiol plasmático (De Rensis & Scaramuzzi, 2003).

Uma outra consequência do *stress* hipertérmico é o aumento do número de folículos pequenos e médios. O recrutamento destes folículos para a fase de crescimento parece ser devida a uma diminuição da concentração circulatória de inibina e a um aumento da secreção de FSH (Roth, Meidan, Braw-Tal & Wolfenson, 2000, citados em Hansen, 2009). No entanto, observou-se uma resposta de FSH reduzida, em vacas sujeitas a *stress* hipertérmico, comparadas com o grupo controlo, após administração de um análogo de GnRH (De Rensis & Scaramuzzi, 2003).

Através de vários estudos, também se observou que as concentrações plasmáticas de P_4 são variáveis em animais sujeitos a temperaturas ambientais elevadas. Em alguns destes, elas estavam aumentadas, noutros diminuídas e noutros ainda, inalteradas. Esta variabilidade deve-se provavelmente a factores que não foram controlados e que poderão afectá-las, sendo as mesmas o resultado das diferenças entre a taxa de produção pelo CL e a taxa de metabolismo hepático, que por sua vez, são influenciadas pela ingestão. Se as concentrações de P_4 forem baixas, durante a fase lútea do ciclo éstrico pré-concepção, podem comprometer o desenvolvimento folicular levando a uma maturação anormal do oócito e morte embrionária precoce (De Rensis & Scaramuzzi, 2003). Para além dos efeitos sobre a P_4 , a temperatura elevada tem efeitos directos no desenvolvimento e maturação dos oócitos. A susceptibilidade

dos oócitos a temperaturas elevadas pode ser detectada durante a fase de vesícula germinativa (núcleo proeminente do oócito que está numa fase latente, na profase I da meiose) e nos períodos de maturação do oócito. As experiências indicaram que o *stress* térmico (*in vivo*) e o choque térmico (*in vitro*) afectam os eventos necessários à maturação bem sucedida do oócito, tal como para a fertilização e o desenvolvimento embrionário, anteriores à implantação. Esse calor induzido diminui as funções do oócito devido a uma série de alterações celulares que afectam o núcleo e o citoplasma da célula (Paula-Lopes et al., 2012). As alterações celulares parecem envolver reacções oxidativas e podem ser contrariadas pela administração de antioxidantes (Roth, Aroyo, Yavin & Arav, 2008 citados em Hansen, 2009).

Durante o ciclo de concepção, teores baixos de P₄ também podem levar ao fracasso da implantação (De Rensis & Scaramuzzi, 2003).

O ambiente intrauterino também está comprometido em vacas sujeitas a *stress* hipertérmico. Há uma diminuição do fluxo sanguíneo para o útero e elevação da temperatura uterina. Estas alterações inibem o desenvolvimento embrionário, aumentam a perda embrionária precoce e reduzem o sucesso da IA (De Rensis & Scaramuzzi, 2003).

O período pré-implantação do embrião é sensível ao *stress* hipertérmico da progenitora, mas vai diminuindo com o tempo. Ealy, Drost & Hansen (1993), citados em Hansen (2009) verificaram que a exposição de vacas de leite ao *stress* térmico, no dia 1 após o estro, quando o embrião é constituído por uma ou duas células, reduzia a proporção de embriões que se desenvolvia até ao estágio de blastocisto, ao dia 8. No entanto, quando as vacas eram submetidas ao mesmo *stress*, no dia 3 (8 a 16 células), 5 (mórula) e 7 (blastocisto) não existia qualquer efeito na proporção de blastocistos, ao dia 8. Por outro lado, este tipo de *stress* pode afectar a produção endometrial de PGF_{2α}, levando a luteólise precoce e perda embrionária (De Rensis & Scaramuzzi, 2003).

O potencial do *stress* hipertérmico sobre uma população pode ser avaliado examinando-se as tendências sazonais na função reprodutiva. A magnitude da diminuição da fertilidade no Verão é muito menor para novilhas e vacas que produzem pequenas quantidades de leite (exemplo das vacas aleitantes) relativamente a vacas altas produtoras de leite (Hansen, 2009). Por isto, a maioria dos estudos têm sido realizados com vacas com aptidão leiteira, entre eles alguns expostos anteriormente (De Rensis & Scaramuzzi, 2003; Jordan, 2003; Paula-Lopes et al., 2012). Este tipo de fêmeas são particularmente sensíveis ao *stress* hipertérmico (associado a determinados períodos do ano) porque têm o metabolismo muito acelerado, devido às grandes quantidades de leite produzido (Hansen, 2009).

Apesar de limitados, alguns estudos também foram realizados em bovinos de carne para avaliação dos efeitos ambientais na reprodução (Anónimo, n. d. b).

Dunlap & Vincent (1971) avaliaram as taxas de concepção de novilhas de carne de raça Hereford submetidas a dois níveis de temperaturas diferentes, nas 72 horas imediatas à cobertura. Verificaram então, que novilhas submetidas a uma temperatura ambiente de 21,1°C e 65% de humidade relativa, nas 72 horas imediatamente após terem sido cobertas, apresentavam uma temperatura rectal de 38,5°C e uma taxa de concepção de 48%. Pelo contrário, as novilhas submetidas a uma temperatura ambiente de 32,2°C, com a mesma percentagem de humidade relativa, no mesmo período de tempo, registaram uma temperatura rectal de 40°C e nenhuma delas ficou gestante.

Amundson, Mader, Rasby & Hu (2006) verificaram existir uma associação negativa entre o índice temperatura-humidade (ITH) e a taxa de gestação nas fêmeas bovinas aleitantes. O cálculo deste índice será explicado adiante, no trabalho experimental.

3.3 Factores individuais

3.3.1 Fêmea

3.3.1.1 Número de partos e idade

As diferenças de performances reprodutivas entre vacas primíparas e multíparas são controversas. Enquanto alguns estudos relatam melhor desempenho reprodutivo em vacas mais velhas, outros pelo contrário, ou não encontram diferenças ou revelam melhor desempenho em primíparas (Tenhagen et al., 2004). Alguns registos de diferenças nas taxas da concepção em vacas com diferente número de partos após sincronização da ovulação são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16: Diferenças de taxas de concepção entre vacas com diferente número de partos em alguns estudos.

Aptidão produtiva	Protocolo de sincronização utilizado	Número de partos	Taxa de concepção	Referência bibliográfica	Observações
Leite	<i>Ovsynch</i>	1	58%	Bayril & Yilmaz, 2013	Diagnóstico de gestação, 30 a 35 dias após IA, com recurso à ecografia
		2	60%		
		≥ 3	38%		
		1	37%	Pursley <i>et al.</i> , 1998	
		2	48%		
		≥ 3	35%		
Carne	<i>CO-Synch</i>	1	50%	Lamb <i>et al.</i> , 2001	
		≥ 2	44%		
	<i>CO-Synch</i> + CIDR	1	44%		
		≥ 2	60%		
	<i>CO-Synch</i>	1	39,3 %	Larson <i>et al.</i> , 2006	
		≥ 2	44,5 %		
	<i>CO-Synch</i> + CIDR	1	55,1%		
		≥ 2	56,3%		

Nos estudos com vacas de leite, verificou-se que vacas na segunda lactação apresentavam melhores taxas de concepção, em relação às primíparas. No entanto, a partir do terceiro parto,

os valores voltam a baixar (Pursley et al., 1998; Bayril & Yilmaz, 2013). Segundo Pursley *et al.* (1998) desconhece-se o motivo para estas variações. Embora não se tenha conhecimento da idade média do grupo com 3 ou mais partos, neste último ensaio, já tinha sido referido anteriormente que vacas com mais de 7 anos revelavam taxas de gestação inferiores (De Kruif, 1978). Há vários estudos, em vacas leiteiras e aleitantes, que relatam que o aumento da idade e do número de partos pode ter consequências no ambiente uterino e resultar em perturbações como obstruções do oviducto, oócitos anormais, aderências ováricas, endometrites e elevadas concentrações plasmáticas de P₄ antes do estro, que afectam o desenvolvimento dos oócitos e, todos, podem ter um efeito adverso na taxa de fertilização (Burns et al., 2010). Wiebold (1988) revelou que apesar da mortalidade embrionária não estar relacionada com o número de partos, existiam maiores perdas embrionárias após o dia 5 (dia 0 é considerado dia do cio), ou seja no estágio de mórula ou blastocisto, em vacas mais velhas. Pelo contrário, vacas mais jovens apresentavam maior mortalidade embrionária antes do dia 5, ainda nos estádios iniciais de clivagem, sugerindo problemas ao nível do oviducto, com uma entrada precoce do embrião no útero. Após estes resultados e a verificação de que o ambiente uterino é anormal (diminuição das concentrações de zinco e de proteínas totais) em vacas com mórulas ou blastocistos de fraca qualidade, o autor especulou que o poder de recuperação do útero após múltiplas gestações pode ser limitado, levando a um aumento de mortalidade do embrião no momento em que entra no útero.

Razões de ordem anatómica também podem explicar menores taxas de concepção em vacas mais velhas. O tamanho do útero de vacas mais velhas é muito maior que em novilhas, logo pode esperar-se uma maior perda de sémen (Verberckmoes et al., 2004). Por outro lado, Humblot (2001) estabeleceu uma relação entre o número de partos e a mortalidade embrionária. Este autor verificou que as taxas de mortalidade embrionária precoce eram de 29,3%, 31% e 37,5% em primíparas, vacas com 2 ou 3 lactações e vacas com 4 ou mais lactações, respectivamente; enquanto que a taxa de mortalidade embrionária tardia se quedava por 13%, 15% e 17,5% nos mesmos grupos pela mesma ordem.

De Kruif (1978) também registou taxas de concepção inferiores em primíparas e, nestes casos, não atribuiu relevância à idade, mas sim a mais problemas durante o parto e puerpério, relativamente às múltíparas.

Num estudo conduzido por Larson *et al.* (2006) (Tabela 18) foi detectado um efeito do número de partos sobre a ciclicidade. Enquanto que apenas 39,9% das primíparas estavam cíclicas no momento do início do protocolo de sincronização, 71,3% das múltíparas encontravam-se já a ciclar (média de 68,5 dias pós-parto). Pelo contrário, Lamb *et al.* (2001) não encontraram qualquer relação entre a ciclicidade e o número de partos.

Meikle *et al.* (2004) investigaram a relação entre o número de partos e a produção de hormonas metabólicas que se sabe sofrerem flutuações durante perturbações do metabolismo energético, no período pós-parto. Como foi explicado anteriormente (ver ponto 1.3.2.1.2), existem sinais metabólicos que influenciam potencialmente o eixo endócrino e reprodutivo. Este estudo foi realizado em vacas de aptidão leiteira e concluiu que as hormonas associadas ao balanço energético negativo que mais podem influenciar o desempenho reprodutivo são a IGF-I e a leptina. As concentrações destas hormonas apresentam uma queda muito mais íngreme durante a gestação e atingem um nível basal no pós-parto de primíparas.

Verificou-se existir um efeito do número de partos sobre o início do ciclo ovário, o intervalo parto-1º serviço e no intervalo parto-concepção. O anestro pós-parto mostrou-se mais longo em primíparas do que nas multíparas (45 *versus* 21 dias) e o intervalo parto-1º serviço também (média de 131 dias em primíparas e de 97 dias em multíparas). As vacas primíparas mostraram um perfil metabólico/endócrino mais desequilibrado que o das multíparas, reflectindo uma maior dificuldade na recuperação do período de balanço energético negativo. Objectivamente, isto foi avaliado através da maior perda de CC, dos 30 dias antes do parto até às primeiras 4 semanas pós-parto, o que se reflectiu em níveis mais elevados de ácidos gordos não esterificados (*non-esterified fatty acids* – NEFA) e maior número de amostras com concentrações de β -hidroxibutirato (*β -hydroxybutyrate* – BHB) acima de 1mmol/L (cetose subclínica) nas fêmeas primíparas (Meikle *et al.*, 2004). A par destes resultados, verificou-se *in vitro*, que oócitos submetidos a um ambiente com baixas concentrações de glucose e expostos a BHB (condições que mimetizam a cetose subclínica – concentrações moderadas de glucose e de BHB; ou da cetose clínica – concentrações baixas de glucose e elevadas BHB), apresentavam um desenvolvimento deficiente após a maturação (Leroy, Vanholder, Opsomer, Van Soom & de Kruif, 2006).

Apesar do metabolismo das vacas leiteiras e das de aptidão cárnica ser diferente, Grimard *et al.* (1995) verificaram que também existem diferenças na eficiência reprodutiva, de acordo com o número de partos. A secreção de LH foi menor e o recrutamento folicular foi menos eficaz em primíparas, que em multíparas. Estas observações podem estar relacionadas com um anestro pós-parto mais prolongado nas primíparas. Para além disto, as vacas submetidas a restrições energéticas no período pós-parto mostraram diferentes perfis hormonais dependendo do número de partos, o que sugere que o nível energético da dieta é mais importante, no metabolismo das primíparas. Enquanto nas multíparas, as concentrações de insulina e de glucose se mantiveram inalteradas, nas primíparas, essas concentrações decresceram.

A maior dificuldade na recuperação do balanço energético negativo por parte das primíparas é provavelmente devida às maiores necessidades energéticas relacionadas com o crescimento

(prioritárias em relação à reprodução – ver ponto 1.3.3.2) e à menor capacidade de ingestão, havendo pois, repercussões nas concentrações hormonais que influenciam o desempenho reprodutivo (Meikle et al., 2004).

3.3.1.2 Intervalo parto-IA

A chave para a otimização do reinício da ciclicidade ovárica no pós-parto de vacas de carne é um manejo e nutrição adequados no período pré-parto (ver 1.3.2.1.2), de forma a que no momento do parto, a fêmea tenha uma CC ótima (entre 2,75 e 3 na escala de 1 a 5; ver 1.3.3.2), com uma perda inferior a 0,5 pontos (escala de 1 a 5) no período pós-parto. Para além disto, a amamentação e o laço maternal também contribuem para a regulação da frequência pulsátil de LH (ver 1.3.2.1.1) (Crowe, 2008).

O anestro detém o maior contributo para a infertilidade da vacada, em virtude da significativa proporção de vacas não cíclicas, no início da época de reprodução (Lamb et al., 2010).

Na sequência de vários estudos verificou-se que a proporção de vacas cíclicas no início de cada época reprodutiva é muito variável (Tabela 17) (Stevenson et al., 2000; Lamb et al., 2001; Larson et al., 2006).

Tabela 17: Percentagem de vacas de carne cíclicas em função dos dias pós-parto.

Percentagem de vacas cíclicas no início da época reprodutiva	Variação dos dias pós-parto no início da época reprodutiva	Aumento da percentagem de vacas cíclicas por mais 10 dias pós-parto, a partir do início da época reprodutiva	Referência bibliográfica
41,8%	22 - 120	5,7%	Stevenson et al., 2000
78%	35 - 113	9%	
43,3%	11 - 118	6,3%	
77%	24 - 114	5,7%	Lamb et al., 2001
65,8%	17 - 125	5,5%	Larson et al., 2006

Apesar da variação da ciclicidade, em todos os estudos verificou-se que à medida que aumentam os dias pós-parto, a percentagem de vacas cíclicas também aumenta (Stevenson et al., 2000; Lamb et al., 2001; Larson et al., 2006).

As taxas de concepção também variam de acordo com os dias pós-parto (Tabela 18) (Stenvenson et al., 2000; Lamb et al., 2001; Larson et al., 2006).

Tabela 18: Taxas de concepção em vacas aleitantes, após sincronização do estro ou ovulação, em função dos dias pós-parto.

Protocolo de sincronização	Dias pós-parto					Referência bibliográfica
	≤ 50	51 a 60	61 a 70	71 a 80	≥ 80	
<i>CO-Synch</i>	38%	47%	62% *	44%	59%	Lamb et al., 2001
	32%	46%	42%	50% *	43%	Larson et al., 2006
<i>CO-Synch</i> + CIDR	47%	67% *	57%	67% *	58%	Lamb et al., 2001
	52%	59% *	53%	57%	49%	Larson et al., 2006
<i>Select Synch</i> (GnRH + PGF _{2α} , 7 dias depois)	50%		74,4% *	60,3%	73,8%	Stevenson et al., 2000
<i>Select Synch</i> + CIDR	45,8%		60,5%	58,9%	64% *	
2 PGF _{2α} , com intervalo de 14 dias	8,3%		65,8%	61,7%	72,4% *	

* Maiores taxas de concepção em cada um dos ensaios

Com base nos trabalhos anteriores (Tabela 18) não é possível estabelecer uma relação precisa entre a fertilidade e o intervalo parto-IA após os 50 dias pós-parto. É difícil analisar este indicador individualmente, pois naqueles estudos as vacas foram sujeitas a diferentes factores ambientais. Para além disso, entre esses estudos e mesmo dentro de cada um, existem factores que diferem e que se relacionam com o estado fisiológico do animal, podendo influenciar o estado reprodutivo, tais como o balanço energético e o número de partos. No entanto, as taxas de concepção mais elevadas ocorrem, quase sempre, após os 60 dias pós-parto (Stevenson et al., 2000; Lamb et al., 2001; Larson et al., 2006).

Humblot (2001) associou a mortalidade embrionária ao intervalo entre o parto e a primeira inseminação, em vacas leiteiras. Este autor verificou haver uma tendência para a diminuição da mortalidade embrionária tardia quando o intervalo entre o parto e a primeira inseminação tende a aumentar. Assim, quando o intervalo foi menor que 70, registou-se uma mortalidade embrionária tardia de 17%. Quando os dias pós-parto foram iguais ou superiores a 70 no momento da IA, a taxa baixou para 13%.

3.4 Raça

As diferenças de fertilidade entre raças são atribuíveis a efeitos aditivos dos genes presentes em diversas frequências, entre elas. As raças têm sido isoladas umas das outras por imposição do homem ou por barreiras geográficas e, em consequência disso, diferenciaram-se na frequência de genes que afectam muitas das suas características. Forças do acaso, mutações, selecção natural para adaptação aos diversos ambientes e/ou à aptidão produtiva também podem ter contribuído para isto (Martin, Brfnkst, Bourdont & Cundiff, 1992).

Entre outras características, o gado doméstico pode ser distinguido com base na sua adaptação à vida em climas quentes. Raças originárias do *Bos indicus* como a Brahman, bem como algumas raças *Bos taurus* (por exemplo, a Senepol) são mais resistentes às condições

tropicais, em que a temperatura ambiental e humidade relativa são elevadas, do que raças que evoluíram na Europa, como a Angus ou Holstein. Grande parte desta adaptação às temperaturas elevadas é atribuível à superior capacidade de raças termotolerantes, na regulação da temperatura corporal. A incapacidade para manter a homeotermia quando expostas ao aumento da temperatura pode comprometer a fertilidade (ver 3.2.1). O *stress* induzido pelo calor é um problema de origem multifactorial, já que a hipertermia afecta a função celular de vários tecidos do aparelho reprodutor feminino. Os embriões são particularmente susceptíveis a essa elevação da temperatura. A exposição da vaca ao *stress* hipertérmico, durante o início da gestação, reduz a sobrevivência embrionária e, *in vitro*, ele reduz o desenvolvimento para o estágio de blastocisto (Paula-Lopes et al., 2003).

A idade à puberdade é outro factor que varia com a raça. Verificou-se que as raças produtoras de carne normalmente são mais tardias na idade ao primeiro cio em relação às raças produtoras de leite. Para além disto, raças que tendem a ter maior tamanho no estado adulto (ex.: Charolês), são mais idosas e mais pesadas à puberdade, do que raças mais pequenas (ex.: Angus). Embora a idade à puberdade difira significativamente entre as raças, as taxas de gestação não divergem significativamente entre as que atingem a puberdade mais precoce ou tardiamente (Martin et al., 1992).

A heterose também influencia certos parâmetros reprodutivos. Pode ser definida como a diferença entre os indivíduos F1 (primeiro cruzamento entre duas raças puras) e as raças parentais puras. Em geral, verificou-se que as novilhas cruzadas chegam à puberdade e atingem pesos superiores, mais cedo que as novilhas de raças puras. Para além disto, a heterose reduz significativamente o intervalo entre o parto e o primeiro cio, bem como o intervalo parto-concepção (Martin et al., 1992).

Relativamente aos machos, verificou-se que a heterose favorece a CE (que se correlaciona com a produção e qualidade do sêmen; ver 1.3.5). A CE está associada à idade à puberdade dos descendentes, machos ou fêmeas (Martin et al., 1992).

IV. TRABALHO EXPERIMENTAL

4.1 Introdução

Melhorar a fertilidade é um objectivo comum às explorações de bovinos de carne (Mufti, Alam, Sarker, Bostami & Das, 2010). É esperado que cada vaca, durante a sua vida fértil, produza uma cria viável de 365 em 365 dias (Parish et al., 2010). Este índice é importante para a rentabilidade da empresa (Mufti et al., 2010).

As taxas de concepção são influenciadas por vários factores, sendo os maiores contribuintes o manejo (como, por exemplo, a escolha do touro, a higiene no momento do parto, o intervalo entre parto e 1ª inseminação e a selecção da vaca) e o ambiente (como, por exemplo, o clima,

a estação do ano, o encabeçamento e o sistema de estabulação) (De Kruif, 1978; Mufti et al., 2010). Ainda assim, diferenças na vacada em termos de nutrição, saúde reprodutiva e práticas de inseminação podem resultar em variações significativas nas taxas de concepção (Mufti et al., 2010).

Com base na pesquisa bibliográfica anteriormente realizada, procurou analisar-se diversos factores suspeitos de afectarem a fertilidade perante a utilização de IATF numa vacada de carne: técnica de IA utilizada, ocorrência de trauma, inseminador, intervalo de tempo entre a descongelação da palhinha e a deposição do sémen (intervalo descongelação-IA), factores ambientais, número de partos, intervalo parto-IA e raça.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Recolha dos dados e dimensão da amostra

O trabalho experimental incluiu um total de 414 fêmeas bovinas iniciais, sendo que 29 foram eliminadas: 7 perderam o CIDR, 6 apresentavam endometrite, 6 com involução uterina incompleta, 4 foram cobertas acidentalmente, 2 em anestro, 2 com quistos ováricos, 1 com fezes na vagina e 1 com fístula recto-vaginal.

Os animais incluídos no estudo apresentavam uma CC compreendida entre 2,5 e 3 (escala de 1 a 5). Para além deste requisito, todos os animais se encontravam cíclicos e sem nenhum tipo de patologia reprodutiva clinicamente detectada no momento da IA. Para avaliar estas condições, foram realizados exames ginecológicos antes do tratamento de sincronização da ovulação.

Teoricamente, quanto mais perto do local de fecundação os spz forem depositados, maior a probabilidade da fêmea ficar gestante. No entanto, Dalton et al. (2012) referiu que nem sempre se registam diferenças na fertilidade quando o sémen é depositado à entrada do útero ou no corno uterino. Por isto, uma das variáveis analisada foi a técnica utilizada na IA. Durante o trabalho experimental foram considerados 3 locais de deposição do sémen: intracornual profunda, convencional (à entrada do corpo do útero) e cervical. A técnica de deposição do sémen no cérvix (técnica cervical) foi utilizada apenas quando os inseminadores não tiveram possibilidade de prosseguir até à entrada do corpo do útero. As técnicas convencional ou intracornual profunda foram assumidas pelos técnicos com base na sua experiência e capacidade de progredir até ao corno uterino. Ainda em relação à técnica, o facto da inseminação poder ou não ser traumática, também foi relacionado com as taxas de gestação. As IA foram classificadas como traumáticas quando, após o sémen ser depositado e retirado o *pistolet*, a extremidade deste apresentava sangue. As IA atraumáticas foram assumidas quando tal não acontecia.

O inseminador também pode ter influência na eficácia da IA, já que é responsável pela manipulação e aplicação do sémen (Durão, 1994; Russi, 2009; Dalton et al., 2012). Neste

trabalho experimental, as fêmeas foram inseminadas por dois técnicos de inseminação. Um deles, o técnico A, era um inseminador próprio da exploração, enquanto o técnico B era um inseminador externo. O técnico A apresentava menor experiência que o técnico B. Nas situações em que o técnico A não conseguiu realizar a técnica de IA por dificuldades na progressão do *pistolet* no aparelho reprodutor da fêmea, o técnico B terminou o trabalho. Nestas circunstâncias, a ocorrência foi definida como A&B.

Segundo Costa et al. (2011) o tempo entre a descongelação do sémen e a sua deposição não deve ser superior a 10 minutos, sob risco de diminuição da taxa de concepção. No entanto, outros autores alongam este período para 15 minutos (Nebel, 2007; Dalton et al., 2012). No trabalho experimental foram contabilizados os minutos entre a descongelação do sémen e a sua deposição.

A influência dos factores ambientais na fertilidade foi avaliada através das temperaturas máximas, médias e mínimas, humidade relativa, velocidade do vento, precipitação e do índice temperatura-humidade (ITH), que tem em conta o efeito combinado da temperatura e humidade. A temperatura média diária e a humidade relativa são utilizadas para calcular o ITH diário através da fórmula seguinte:

$$ITH = (0,8 \times Temperatura) + \left[\left(\frac{\% Humidade\ relativa}{100} \right) \times (Temperatura - 14,4) \right] + 46,4.$$

Este índice tem sido utilizado para quantificar o *stress* associado à combinação entre temperaturas e humidades ambientais elevadas, que se sabem afectar as taxas de gestação (Amundson et al., 2006). O *stress* hipertérmico pode ter impacto nas taxas de concepção alterando o crescimento folicular, o desenvolvimento dos mecanismos luteolíticos e o desenvolvimento embrionário (Jordan, 2003). Quando o índice ITH se situa entre 70 e 75 pode interpretar-se como um alerta. A partir do valor 75 o animal já se pode considerar em perigo. Valores de ITH iguais ou superiores a 84 podem provocar morte nos animais.

Temperaturas ambientais baixas podem provocar lesões irreversíveis nos spz ainda antes da IA devido à queda de temperatura sofrida pelo sémen após a descongelação (em banho maria), resultando em choque térmico pelo frio (Nebel, 2007). Para além disto, o *stress* hipotérmico pode ter outras implicações na reprodução. Os índices que visam o *stress* hipotérmico não são tão bem definidos como os referentes ao *stress* hipertérmico e não são utilizados neste trabalho porque não se verificam temperaturas baixas extremas num clima mediterrânico (Anónimo, n. d. b)

Factores individuais associados à fêmea também foram relacionados com a taxa de gestação. Tem-se constatado que as diferenças de performances reprodutivas entre fêmeas bovinas com diferentes números de partos são controversas. Neste trabalho procurou-se estudar as diferenças entre fêmeas nulíparas, primíparas e múltíparas.

Outro dos factores controversos é o intervalo parto-IA. Trabalhos realizados por diversos autores (Stevenson et al., 2000; Lamb et al., 2001; Larson et al., 2006) sugerem que não é possível estabelecer uma relação precisa entre a fertilidade e o intervalo parto-IA. Categorizaram-se, no presente trabalho, 4 grupos de intervalos: inferior ou igual a 50 dias, de 51 a 70 dias, de 71 a 90 dias e superior a 90 dias.

O efeito raça também foi analisado utilizando as raças Blonde D'Aquitaine, Charolesa, Limousine e Salers.

O intervalo descongelação-IA foi determinado durante a IA e a ocorrência de trauma foi avaliada de acordo com a presença ou ausência de sangue no *pistolet* após a IA.

O diagnóstico de gestação foi realizado entre os 28 e os 42 dias após a IA através de ecografia (*Ultrascan 900*, AMI, Canadá) com recurso a uma sonda linear transrectal de 5 Mega Hertz (MHz) de frequência.

Os dados foram recolhidos entre Dezembro de 2010 e Outubro de 2012.

4.2.2 Caracterização da exploração

Neste estudo foram utilizados dados provenientes de fêmeas bovinas da Herdade da Carrasqueira, freguesia do Poceirão, concelho de Palmela, distrito de Setúbal. Este espaço tem uma área de 300ha, com um efectivo de cerca de 3000 reprodutoras e os animais são criados em regime semi-extensivo.

As fêmeas parem em parques com recurso a pastagens permanentes de regadio e são suplementadas. As crias são mantidas com as progenitoras até aos 6 meses, aproximadamente (altura do desmame).

No período de engorda, que dura cerca de 3 meses, os animais são colocados em parques, tendo em atenção factores como a idade, o sexo e a raça. Nesta fase é-lhes fornecido um alimento composto, palha e feno até ao abate.

Os animais adquiridos pela empresa, na sua maioria em leilões e uma pequena percentagem nascidos de vacadas pertencentes à mesma empresa, resultam do cruzamento de raças de carne, na sua maioria Limousine, Charolesa, Blonde D'Aquitane e Salers, com raças nacionais autóctones, Alentejana e Mertolenga. Aos animais adquiridos em leilões, na fase de adaptação, é-lhes fornecida uma alimentação à base de feno e água nos primeiros dias, passando depois para uma alimentação à base de alimento composto de adaptação, acompanhado por uma fonte de fibra e palha.

A IA foi implementada nesta exploração para aumentar o número de animais de linha pura das raças exóticas. Sendo assim, no trabalho experimental foram inseminadas fêmeas Blonde D'Aquitaine, Charolesas, Limousines e Salers.

As épocas de inseminação são semestrais, sendo a primeira de Novembro a Fevereiro e a segunda de Maio a Agosto.

4.2.3 Maneio reprodutivo

Todas as fêmeas bovinas inseridas no estudo foram sujeitas a um protocolo de indução de ovulação, do tipo CO-Synch modificado. Este protocolo consistiu na administração de 8,4 µg (microgramas) de um análogo de GnRH [acetato de buserelina, Receptal®, MSD Animal Health (Intervet Portugal – Saúde Animal Lda), Portugal] e introdução do CIDR [1,38g de P₄, Pfizer Saúde Animal (Intervet Portugal – Saúde Animal Lda), Portugal] num dia aleatório do ciclo ovário da fêmea (dia 0), com remoção do CIDR e administração de 500 µg de um análogo de PGF_{2α} [Cloprostenol sódico, Estrumate®, MSD Animal Health (Intervet Portugal – Saúde Animal Lda), Portugal] e 600 UI (unidades internacionais) de eCG [Intergonan 6000 UI®, Animal Health (Intervet Portugal – Saúde Animal Lda), Portugal] após 7 dias (dia 7) e IA associado a nova administração de 8,4µg do análogo de GnRH, 48 horas depois (dia 9) (Figura 18).

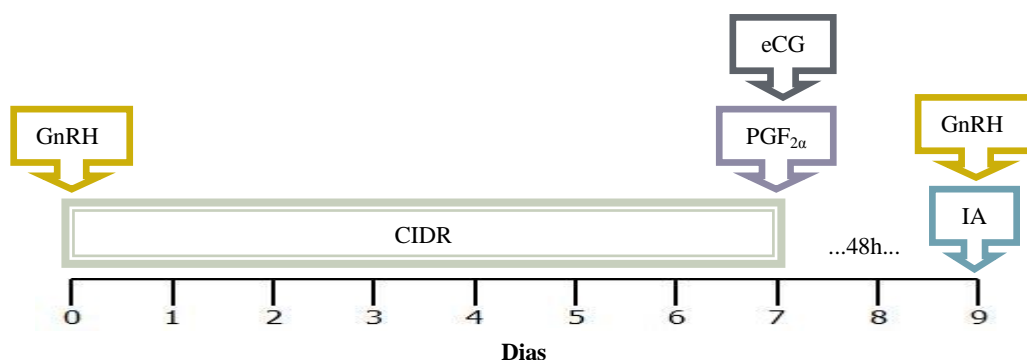


Figura 18: Esquema do protocolo de sincronização da ovulação utilizado no trabalho experimental.

No dia 9, as fêmeas foram inseminadas com sémen descongelado de touros da mesma raça para produção de uma linha pura.

4.2.4 Condições ambientais e avaliação do *stress* hipertérmico

Os dados relativos aos factores ambientais em estudo foram obtidos a partir da Estação Nacional da Várzea, que fica a cerca de 2km da exploração. As temperaturas mínimas, máximas e médias diárias foram registadas durante todo o período de estudo, tal como a humidade relativa, a velocidade do vento e a precipitação diárias. O ITH foi calculado para cada dia, a partir de 30 dias antes da IA até 30 dias após.

As médias das temperaturas (mínimas, máximas e médias), da humidade relativa, da velocidade do vento e da precipitação foram calculadas para os intervalos -30 dias até ao dia da IA (dia 0) e para o intervalo entre a IA e o diagnóstico de gestação (+30).

A média do ITH para cada grupo (de -30 à IA e do dia da IA até +30), foi calculado a partir da média deste índice diário durante 30 dias.

Foram constituídos grupos (1 a 19) para cada data de IA (ver Anexo IV) para avaliar as taxas de gestação de cada grupo e para calcular o número de dias a que estes grupos foram expostos ao *stress* hipertérmico. Como valor base utilizou-se o valor ITH de 74, a partir do qual as

fêmeas de carne revelam repercussões na reprodução segundo o estudo de Amundson *et al.* (2006).

4.3 Análise estatística

Os dados e registos recolhidos foram introduzidos numa base de dados criada no programa Microsoft Office Excel® 2013. Através deste programa foram ainda construídos os gráficos de barras relativos às frequências.

A restante análise estatística descritiva (histogramas, diagramas de caixa de bigodes e tabelas) foi realizada através do programa IBM SPSS Statistics® 21.0.

Para testar a hipótese de que cada factor estaria ou não relacionado com a taxa de gestação, calculou-se o valor *p* (probabilidade de significância), escolhendo-se um nível de significância de 5%. Ou seja, quando este valor foi inferior a 0,05, estabeleceu-se que existiam evidências estatísticas suficientes para rejeitar a hipótese nula (não há relação do factor com o diagnóstico de gestação), pois existe apenas uma pequena hipótese de os resultados ocorrerem se a hipótese nula for verdadeira. Pelo contrário, quando o valor *p* foi superior a 0,05, concluiu-se que não existiam evidências estatísticas suficientes para se rejeitar a hipótese nula.

Através do mesmo método foram estabelecidas relações entre os vários factores, através do cálculo do valor *p* e do coeficiente de correlação (*r*). O *r* avalia até que ponto existe uma relação linear entre duas variáveis. Este factor varia entre -1 e +1. O sinal do mesmo indica se uma variável aumenta à medida que a outra também aumenta (*r* positivo), ou se uma variável diminui à medida que a outra diminui (*r* negativo). Quanto mais próximo *r* estiver dos extremos, maior é o grau de associação linear. O estabelecimento de relações entre as 2 variáveis foi apenas tido em conta quando esta relação se tornava pertinente.

O intervalo descongelamento-IA foi relacionado com a taxa de gestação através de regressão logística binária.

4.4 Resultados e discussão

4.4.1 Estatística descritiva: descrição dos resultados

4.4.1.1 Caracterização dos animais

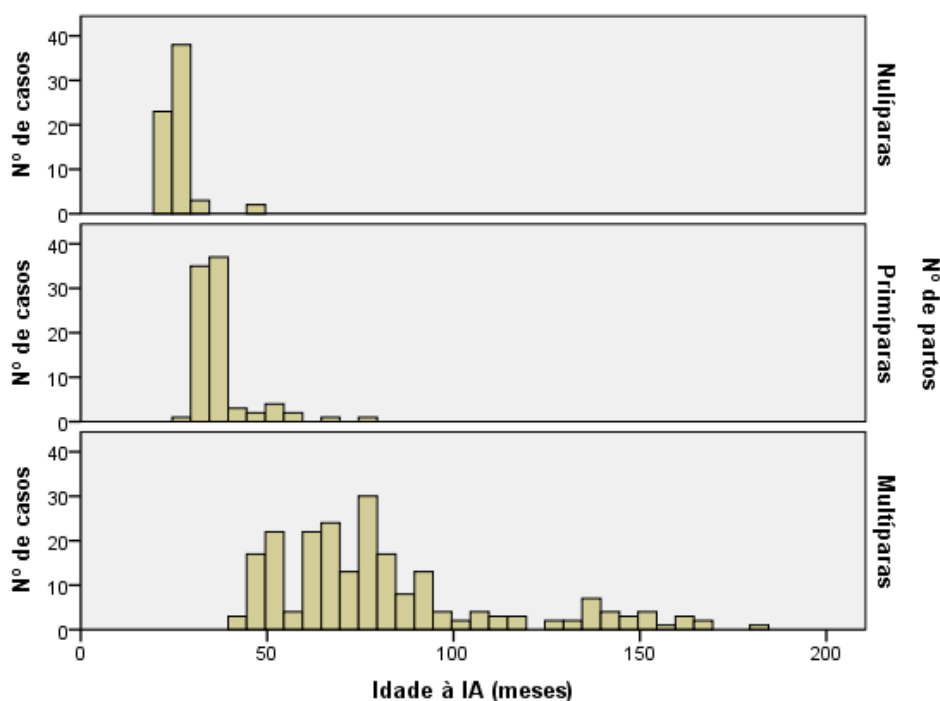
O total de 385 fêmeas foi composto por 247 Limousine (64,2%), 78 Charolesas (20,3%), 51 Salers (13,2%) e 9 Blonde D'Aquitaine (2,3%). A média das idades foi de 62,48±34,28 meses, sendo a mínima de 22 meses e a máxima de 184 meses. O valor 34,28 representa o desvio padrão da média. Este será representado desta forma ao longo do texto.

Tabela 19: Medidas descritivas da idade das fêmeas à IA.

	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
Idade à IA (meses)	22	184	62,48	34,279

As fêmeas foram distribuídas por 3 grupos: nulíparas, primíparas e múltiparas. Apesar de não haver registo do número de partos do total de fêmeas em estudo, são conhecidos o número de partos de 370 animais (96,1%): 66 das fêmeas são nulíparas (17,8%), 86 primíparas (23,2%) e 218 múltiparas (58,9%). A idade em função do número de partos é apresentada no Gráfico 7.

Gráfico 7: Distribuição dos animais por número de partos de acordo com a idade à IA.



As fêmeas nulíparas apresentaram uma idade mínima à IA de 22 meses e máxima, de 49 meses, com uma média de $26,12 \pm 4,23$ meses. As primíparas tinham no mínimo 27 meses e no máximo 78 meses, com uma média de idade de $37,33 \pm 8,05$ meses. As múltiparas tinham uma idade mínima de 40 meses e 184 meses de idade máxima, com uma média de $81,39 \pm 30,59$ meses.

A distribuição do número de partos em relação às raças em estudo é apresentada no Anexo II, sendo que 88,9% das Blonde d'Aquitaine, 79,5% das Charolesas e 62,1% das Limousine eram múltiparas e, 92,2% das fêmeas Salers nulíparas.

As vacas em estudo apresentaram um intervalo de 31 dias a 801 entre o último parto e a IA (Tabela 20).

Tabela 20: Medidas descritivas do intervalo (em dias) desde o último parto à IA.

	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
Intervalo parto-IA	31	801	102,91	82,980

4.4.1.2 Caracterização dos factores não associados ao animal

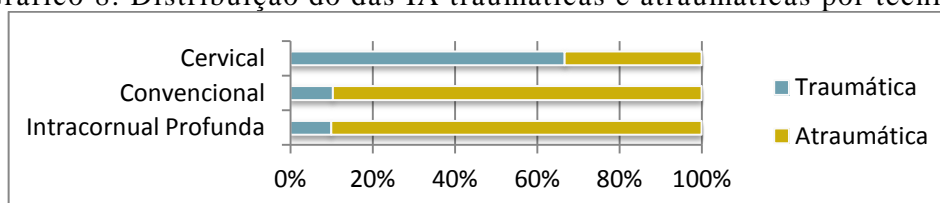
4.4.1.2.1 Tipo de IA

A intracornual profunda foi a técnica mais utilizada (70,8%), seguida da convencional (27,7%) e, por fim da cervical (1,6%) (Anexo I).

Apenas 11% das IA foram traumáticas (Anexo I).

A técnica que registou maior percentagem de traumatismo (66,7%) foi a cervical (Gráfico 8; Anexo II).

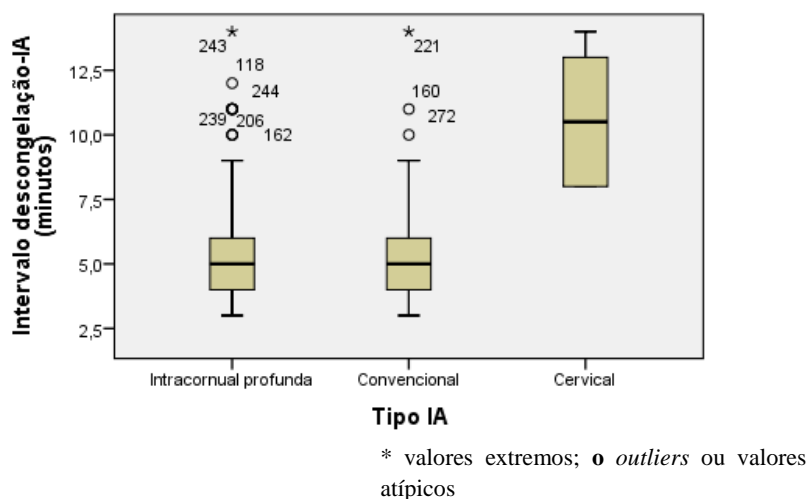
Gráfico 8: Distribuição do das IA traumáticas e atraumáticas por técnica.



Em termos de intervalo de tempo entre a descongelação do sémen e a sua deposição no sistema reprodutor da fêmea, não se verificaram muitas variações entre as técnicas intracornual profunda e convencional. Metade de cada um destes dois tipos de intervenção foram executados entre os 4 e os 6 minutos, valores que representam o 1º e 3º quartil respectivamente, e estão representados no gráfico Gráfico 9 pelas linhas horizontais inferior e superior que delimitam a caixa.

A técnica cervical em 50% das fêmeas, foi executada entre os minutos 8 e 13,25.

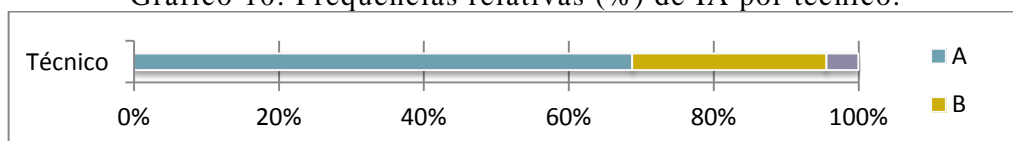
Gráfico 9: Distribuição da técnica pelo intervalo descongelação-IA.



4.4.1.2.2 Técnico

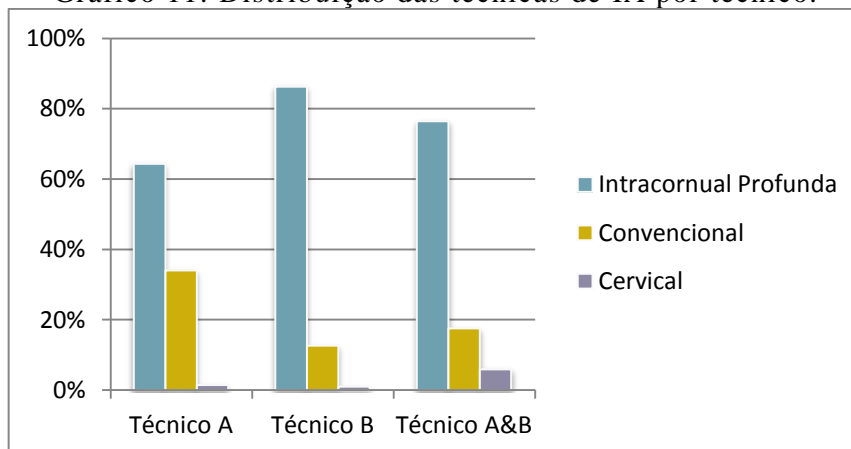
A maior parte das inseminações foram realizadas pelo técnico A (Gráfico 10; Anexo I).

Gráfico 10: Frequências relativas (%) de IA por técnico.



Todos os inseminadores utilizaram com maior frequência a técnica intracornual profunda. Por sua vez, a técnica convencional foi mais utilizada pelo técnico A e a cervical na variável A&B (Gráfico 11; Anexo II).

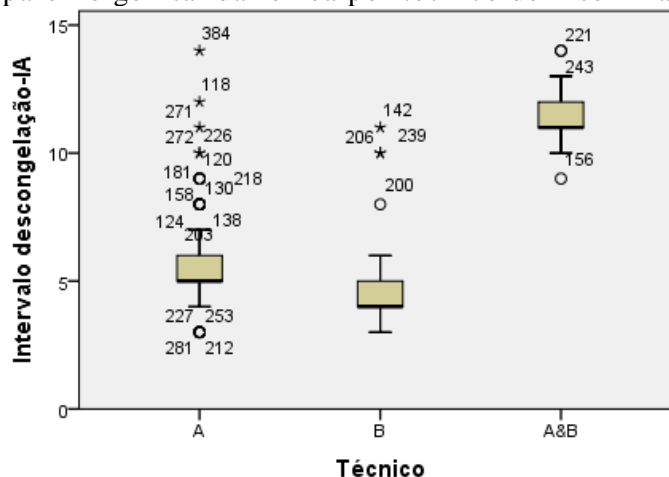
Gráfico 11: Distribuição das técnicas de IA por técnico.



O técnico B apresentou uma menor média de tempo entre a descongelação do sêmen e a sua deposição no aparelho genital feminino, com o valor de $4,78 \pm 1,89$ minutos, enquanto o técnico A obteve $5,54 \pm 1,57$ minutos e o A&B $11,45 \pm 1,57$ minutos.

Verificou-se que 50% das IA pelos técnico A, B e A&B duraram menos de 5, 4 e 11 minutos (valores das medianas), respectivamente. Por outro lado, 75% das IA realizadas pelos técnicos A, B e A&B persistiram por menos de 6, 5 e 13 minutos (valores do 3º quartil), respectivamente (Gráfico 12).

Gráfico 12: Distribuição do intervalo entre a descongelação do sêmen e a sua deposição no aparelho genital da fêmea por técnico de inseminação.



* valores extremos; o outliers ou valores atípicos

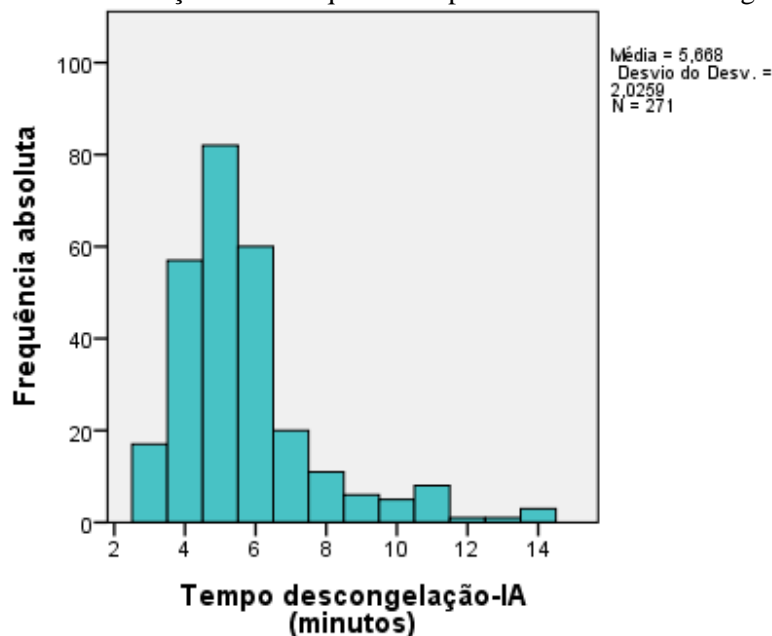
Após a análise do Gráfico 12, verifica-se que o percentil 25 (ou 1º quartil) foi coincidente com a mediana, ou seja, a amostra encontrava-se muito concentrada abaixo da mediana e muito dispersa acima desta. Isto ocorreu para todos os técnicos.

Para além disto, verificou-se que o técnico A obteve maior número de intervalos de tempo atípicos e extremos, relativamente aos restantes.

4.4.1.2.3 Intervalo descongelção-IA

Foram contabilizados os minutos desde a descongelção do sémen até à sua deposição no aparelho reprodutor feminino. O tempo médio de foi de $5,67 \pm 2,03$ minutos, com um mínimo de 3 e um máximo de 14 minutos (Gráfico 13).

Gráfico 13: Distribuição das frequências pelo intervalo descongelção-IA.



Metade das IA foram realizadas entre os 4 e os 6 minutos e 75% abaixo dos 6 minutos (Tabela 21).

Tabela 21: Medidas descritivas e de dispersão do intervalo descongelção-IA.

	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão	1º Quartil	2º Quartil ou mediana	3º Quartil
Intervalo descongelção-IA (minutos)	3	14	5,67	2,026	4,00	5,00	6,00

4.4.1.2.4 Condições ambientais e *stress* hipertérmico

A média das temperaturas mínimas na estação fria (IA em Dezembro, Janeiro ou Fevereiro) variaram entre 6,4 e 13,5 °C. Para a mesma estação, as médias das temperaturas médias e máximas variaram entre 11,2 e 16,7°C e 13,4 e 19,3°C, respectivamente (Anexo IV). Estes valores foram verificados entre os 30 dias anteriores à IA e os 30 dias posteriores a esta.

Para o mesmo intervalo de tempo, foram registadas genericamente percentagens de humidade relativa mais elevadas (média oscilando entre 49,5 e 83,9%) nesta época que na época quente (IA realizada entre Maio e Agosto) (Anexo IV).

Relativamente à precipitação, verificaram-se maiores valores médios na época fria de 2010/2011, sendo que nas outras épocas a escassez foi notória (Anexo IV).

Comparativamente com as temperaturas registadas na época fria, as médias das temperaturas da época quente foram mais elevadas (Anexo IV).

Não existiu nenhum grupo em que a média do ITH fosse igual ou superior a 74, nem durante os 30 dias anteriores à IA, nem nos 30 dias posteriores (Anexo IV).

No entanto, alguns grupos foram expostos a dias em que o ITH foi igual ou superior a 74. O total de dias que cada grupo esteve exposto a *stress* hipertérmico encontra-se na Tabela 22.

Tabela 22: Número de dias em que cada grupo foi exposto a $ITH \geq 75$ dos 30 dias anteriores à IA (-30) aos 30 dias posteriores a esta (+30).

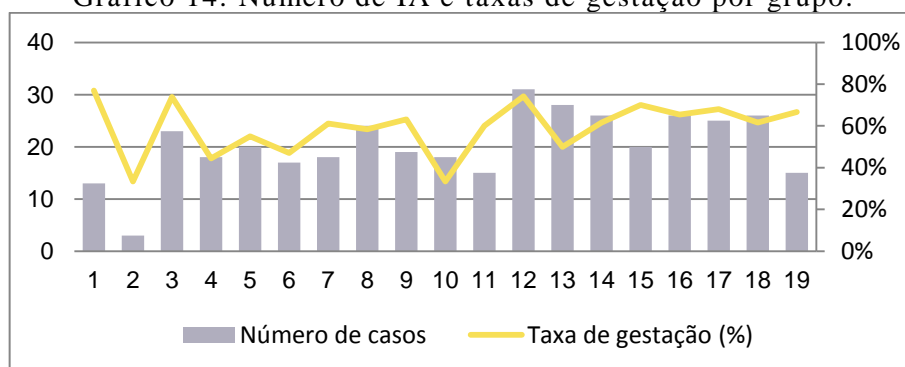
	Dias em relação à IA	Grupo*																		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Nº dias	-30	0	0	1	1	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	4
THI ≥ 75	+30	0	0	2	3	1	2	4	0	0	0	0	0	2	4	3	2	4	4	2

*Grupos definidos no Anexo IV, por ordem cronológica da data da IA.

4.4.1.2 Taxa de gestação

A taxa de gestação global foi de 60,8%, sendo que 234 dos animais apresentaram diagnóstico de gestação positivo e 151 negativo. Esse valor variou dentro dos vários grupos de inseminação (grupos definidos a partir do Anexo IV), como ilustrado no Gráfico 14. A taxa de gestação mais elevada (77%) foi registada no grupo 1 e as mais baixas (33%) nos grupos 2 e 10.

Gráfico 14: Número de IA e taxas de gestação por grupo.



4.4.2 Estatística inferencial: relação dos factores com a fertilidade

4.4.2.1 Raça

Não foram encontradas evidências estatísticas suficientes ($p \geq 0,05$) para se rejeitar a hipótese de que a raça não influenciava a taxa de gestação, apesar desta ter variado entre as raças em

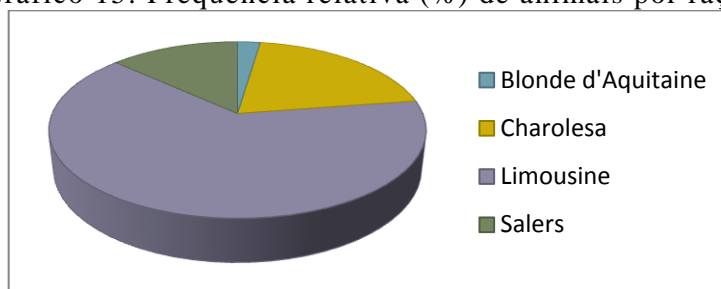
estudo. A raça que apresentou maior percentagem de fêmeas gestantes foi a Blonde d'Aquitaine (Tabela 23).

Tabela 23: Taxa de gestação associada a cada raça e significância associada ao factor.

Factor	Taxa de gestação (%)	Valor p	Interpretação
Raça			
Blonde d'Aquitaine	77,8	0,704	Raça sem relação com a taxa de gestação.
Charolesa	53,8		
Limousine	62,3		
Salers	60,8		

No entanto, esta raça foi contemplada com apenas 9 animais, ou seja, representando apenas 2,3% da amostra (Gráfico 15). Esta marcada diferença entre o número de animais de cada raça é uma possível falha do estudo e poderá influenciar o impacto deste factor na fertilidade.

Gráfico 15: Frequência relativa (%) de animais por raça.



Por outro lado, as raças Blonde d'Aquitaine, Charolesa, Limousine e Salers são raças provenientes de diferentes regiões de França e adaptadas, actualmente, a outras dezenas de países, entre eles Portugal. As condições de exploração francesas são bastante representativas de várias realidades (ver anexo III) edafo-climáticas favoráveis (área da região central de França, de onde é proveniente a raça Charolesa) ou desfavoráveis, ou seja, áreas montanhosas (Salers) ou sub-húmidas do centro-sul de França (Limousine), onde os animais são especialmente adaptados às deficiências nutricionais prolongadas no Verão ou Inverno. Para além da selecção natural, o notável desenvolvimento da IA em França (70% das fêmeas inseminadas, 50% delas pertencentes a vacadas aleitantes) proporcionou um grande avanço no melhoramento genético das raças originárias deste país (Vissac, n.d.). Cuidados com a saúde, nutrição e ambiente, no presente trabalho, também podem ter contribuído para não se encontrarem diferenças significativas na fertilidade entre as diferentes raças.

4.4.2.2 Número de partos / Idade

A idade à IA e o número de partos são duas variáveis com correlação linear positiva ($r=0,69$ ao nível de significância de 0,01) ou seja, à medida que o número de partos aumenta, a idade também aumenta e vice-versa.

O número de partos e a idade das fêmeas não apresentaram evidências estatísticas suficientes ($p \geq 0,05$) para afirmar relações causa-efeito entre estes factores e a fertilidade.

Com base na afirmação de De Kruif (1978) de que fêmeas bovinas com menos de 7 anos revelariam taxas de gestação inferiores, este factor também foi analisado. No presente estudo, apenas 20,3% das fêmeas tinham mais de 7 anos. Este factor não foi significativo ($p \geq 0,05$) relativamente à taxa de gestação (Tabela 24).

Não foram registadas diferenças acentuadas entre as taxas de gestação de nulíparas, primíparas e múltiparas (Tabela 24).

Tabela 24: Taxa de gestação associada ao número de partos de cada fêmea e significância associada aos factores número de partos e idade.

Factor	Taxa de gestação (%)	Valor p	Interpretação
Número de partos			
Nulíparas	60,6	0,806	Número de partos da fêmea sem relação com a taxa de gestação.
Primíparas	57,0		
Múltiparas	61,0		
Idade		0,496	Idade sem relação com a taxa de gestação.
< 7 anos	62,0	0,377	Idade inferior ou superior a 7 anos sem relação com a taxa de gestação.
≥ 7 anos	56,0		

Estes factores podem não ter sido significativamente diferentes por uma questão de bom maneio: nutrição cuidada, idade ao primeiro parto adequada e separação das fêmeas por idades.

Os cuidados com a nutrição, na exploração em questão, foram notórios e a suplementação em função das necessidades dos animais também. Isto fez com que as reservas energéticas disponíveis fossem suficientes para as necessidades das fêmeas, entre elas as de manutenção, crescimento (no caso das fêmeas mais jovens) e reprodução.

Outro dos factores foi a idade ao primeiro parto revelar uma média de 26 meses, e, por isso mesmo, relativamente tardia. Esta situação poderá ter tido como consequência, a não existência de diferenças entre a fertilidade das nulíparas e a das fêmeas já paridas.

O criador teve, sempre, o cuidado de separar as fêmeas nulíparas das outras fêmeas antes e após IA. Desta forma, o comportamento hierárquico e consequente disputa territorial e alimentar entre os animais mais velhos e mais novos foi, certa forma, evitado.

Por outro lado, a incorporação de P₄ no protocolo de sincronização da ovulação pode ter permitido que novilhas anéstricas ou cíclicas apresentassem taxas de gestação semelhantes e, com isto se podem explicar as pequenas variações entre fertilidades de novilhas e vacas. Também o protocolo de sincronização de ovulação pode ter contribuído para o mesmo, relativamente às primíparas e múltiparas. O anestro pós-parto é normalmente mais longo em primíparas (Meikle et al., 2004); no entanto, foi administrada eCG durante o protocolo de sincronização da ovulação.

4.4.2.3 Intervalo parto-IA

O intervalo de dias entre o último parto da fêmea e a inseminação não influenciou, do ponto de vista estatístico, a taxa de gestação. No entanto, registaram-se diferenças visíveis na percentagem de animais que ficaram gestantes antes do dia 50 e após este intervalo de tempo.

Tabela 25: Taxa de gestação associada ao intervalo parto-IA e significância associada ao factor.

Factor	Taxa de gestação (%)	Valor de p	Interpretação
Intervalo parto-IA			
≤ 50	40,0	0.877	Intervalo pós-parto sem relação com a taxa de gestação.
51 – 70	66,7		
70 – 90	60,5		
> 90	60,2		

A baixa taxa de gestação relativa associada a fêmeas com intervalo parto-IA inferior ou igual a 50 dias poderá estar associada a uma involução uterina incompleta. Todas as fêmeas que apresentaram este intervalo de tempo à IA eram múltiparas (Anexo II). É sabido que o útero das vacas múltiparas involui mais lentamente que o das primíparas (Ball & Peters, 2004b). Por outro lado, apenas 1,6% das fêmeas se encontravam no intervalo pós-parto ≤ 50 dias.

A não existência de associação entre a taxa de gestação e o intervalo parto-IA pode ter sido devido às boas práticas relativamente à nutrição (Gordon, 1996b) já que todas as fêmeas apresentavam boa CC (2,5 a 3 na escala de 1 a 5) na altura da inseminação, o que pressupõe uma alimentação adequada das fêmeas. Outros factores como a temperatura, humidade (consultar Anexo IV) e esquema semestral de desparasitação podem ter contribuído para este facto, já que se temperaturas e/ou humidades relativas altas e elevadas cargas parasitárias podem influenciar positivamente a duração do anestro pós-parto (Abeygunnarwardena & Dematawewa, 2004). Também a presença do touro pode ter contribuído para encurtamento do anestro pós-parto já que antes da IA as fêmeas tiveram algum contacto (separados por cercas) com machos inteiros.

Por outro lado, alguns estudos comprovaram que a introdução de eCG num protocolo de sincronização aumentava a taxa de ovulação, especialmente em vacas em anestro pós-parto (Bó et al., 2013).

4.4.2.4 Técnica utilizada na IA

A taxa de gestação foi mais elevada quando se recorreu à IA intracornual profunda e inferior, quando a deposição do sémen se realizou no cérvix. No entanto, não existiram diferenças estatísticas significativas entre as três metodologias ($p \geq 0,05$) (Tabela). Taxas de gestação semelhantes entre as técnicas convencional e intracornual profunda já tinham sido registadas em alguns estudos (Hawk and Tanabe, 1986; Williams et al., 1988; McKenna et al., 1990, citados em Dalton et al., 2012). Este facto pode estar relacionado com o número mínimo de spz por IA necessários para se alcançarem taxas de concepção aceitáveis e a optimização

deste número para doses de palhinhas comercializáveis. No presente trabalho, todas as palhinhas utilizadas encontravam-se no circuito comercial para IA convencional. Mais precisamente, o número elevado de spz contidos em cada palhinha pode camuflar a taxa de gestação inferior esperada através da técnica convencional (deposição do sémen num lugar mais afastado da fertilização relativamente à técnica intracornual profunda) (Silveira et al., 2013). Macpherson (1968), citado em Dalton *et al.* (2012), referiu que a inseminação cervical diminui em cerca de 10% a fertilidade comparativamente à técnica convencional. Os resultados do presente trabalho mostraram uma descida ainda mais significativa da taxa de gestação com a IA cervical (cerca de 24%) relativamente à técnica convencional.

Não foi significativa a relação entre a técnica de IA e a ocorrência de trauma, mas existiu uma tendência para a significância ($p=0,05$). Isto foi evidenciado pela elevada percentagem de trauma ocorrido quando efectuada a IA cervical (

Gráfico 8).

O facto da inseminação ser ou não traumática afectou significativamente a taxa de gestação ($p<0,05$) (Tabela 26).

Tabela 26: Taxas de gestação associada a cada tipo de IA e ao factor trauma e significância associada a cada um dos factores.

Factor	Taxa de gestação (%)	Valor de p	Interpretação
Tipo de IA			
Intracornual profunda	63,1	0,119	Técnica utilizada na IA sem relação com a taxa de gestação.
Convencional	57,5		
Cervical	33,3		
Ocorrência de trauma			
Atraumática	63,5	0.004	Maior número de vacas gestantes quando não há trauma durante a IA.
Traumática	40,5		

O trauma, associado à lesão do endométrio, possivelmente causa a libertação de compostos espermatozoides e embriocidas (Wulster-Radcliffe, Wang & Lewis, 2004). Estes compostos serão possivelmente auto-anticorpos (imunoglobulinas) presentes no plasma sanguíneo da fêmea, que, em contacto com os espermatozoides ou embriões não os reconhecem como células próprias do organismo.

A ocorrência de trauma e o tempo entre a descongelação do sémen e a IA foram correlacionados significativamente ($r=0,276$, ao nível de significância de 0,01), ou seja, à medida que o tempo de execução aumenta, aumenta a probabilidade de traumatismos.

4.4.2.5 Técnico da inseminação

O factor técnico de inseminação foi estatisticamente significativo ($p < 0,05$) relativamente à taxa de gestação, ou seja este factor pode afectar a eficiência da fertilidade segundo os valores observados (Tabela 27).

Tabela 27: Taxa de gestação associada a cada um dos técnicos de inseminação e respectiva significância.

Factor	Taxa de gestação (%)	Valor de p	Interpretação
Técnico			
A	64,2	0.005	Grande variação entre inseminadores.
B	58,3		
A&B	23,5		

Apesar de se ter verificado uma diferença estatística significativa nas taxas de gestação dos inseminadores em análise, os resultados obtidos carecem de uma explicação detalhada..

O técnico A, tinha menor grau de experiência e uma personalidade menos calma, mas obteve melhores resultados que o técnico B. Por outro lado, o técnico A era interno na exploração e poderia revelar um maior comprometimento afectivo que o técnico B.

No entanto, algumas IA que foram iniciadas pelo técnico A, foram terminadas pelo técnico B, casos denominados por A&B. Ou seja, enquanto o técnico B executou de forma autónoma todas as IA propostas, com o técnico A não aconteceu o mesmo. Por isto, não podendo atribuir-se um valor absoluto às diferenças encontradas e portanto, no presente ensaio, não se pode afirmar que o factor inseminador tivesse afectado a eficiência da IATF.

Para melhor avaliar esta situação, foi analisada uma situação resultante, denominado técnico C, da junção do técnico A com o técnico A&B.

Tabela 28: Taxa de gestação associada aos técnicos A e C e respectiva significância.

Factor	Taxa de gestação (%)	Valor de p	Interpretação
Técnico			
B	58,3	0,557	Sem variação entre inseminadores
C	62,0		

Neste caso, não se verificaram diferenças significativas ($p \geq 0,05$) entre os técnicos, dando ênfase ao discutido anteriormente. Entre o técnico A e B também não foi possível associar o factor inseminador à taxa de gestação ($p = 0,295$).

Já entre o técnico A e A&B e B e A&B verificaram-se diferenças significativas ($p = 0,001$ e $p = 0,008$, respectivamente). Isto seria de esperar, dada a baixa taxa de gestação de A&B em relação aos outros técnicos. A baixa taxa de gestação associada a A&B deveu-se provavelmente à alta incidência de trauma (41% das IA traumáticas; ver Anexo II) e ao facto de cerca de 82% das IA realizadas em regime de partilha, o intervalo descongelamento-IA ser superior a 10 minutos (ver Anexo II).

4.4.2.6 Intervalo descongelção-IA

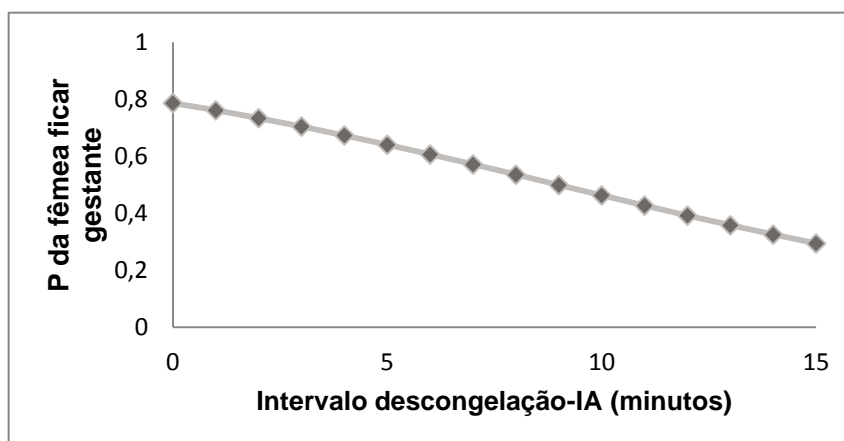
O intervalo de tempo entre a descongelção da palhinha de sémen e a introdução do sémen no aparelho reprodutor da fêmea bovina, afectou significativamente a taxa de gestação ($p < 0,05$).

Tabela 29: Taxa de gestação e probabilidade de fêmea ficar gestante (P) associada a cada intervalo de tempo descongelção-IA observado e valor de p do factor.

Factor	Taxa de gestação (%)	P	Valor de p	Interpretação
Intervalo descongelção-IA				
3'	53	0,70	0.017	Quanto maior o intervalo de tempo entre a descongelção do sémen e a sua deposição no aparelho genital feminino da vaca, menor o número de vacas gestantes.
4'	77	0,67		
5'	57	0,64		
6'	6	0,61		
7'	65	0,57		
8'	73	0,54		
9'	83	0,50		
10'	20	0,46		
11'	50	0,43		
12'	00	0,39		
13'	00	0,36		
14	00	0,33		

A relação entre a estimativa da probabilidade (através da regressão logística) da fêmea bovina ficar gestante e o intervalo de tempo descongelção-IA encontra-se representada no Gráfico 16.

Gráfico 16: Relação entre a probabilidade da fêmea bovina ficar gestante e o intervalo de tempo descongelção-IA.

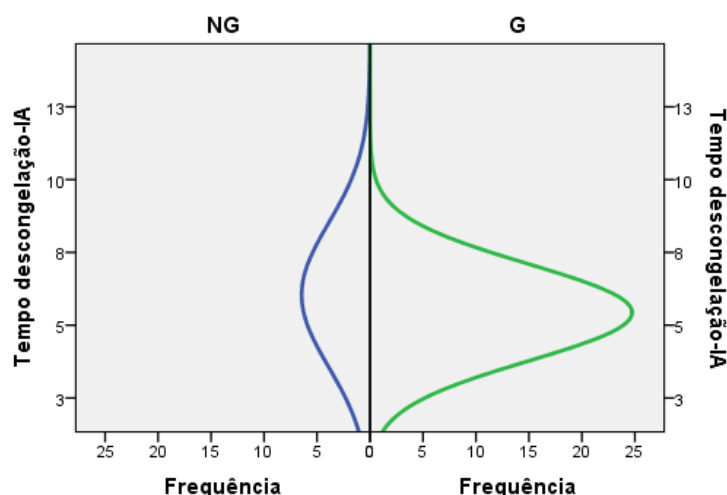


As probabilidades registadas na Tabela 29e no Gráfico 18 foram calculadas a partir da equação $P = \frac{1}{1+e^{-(a+bX)}}$, em que P significa probabilidade; x é a variável explicativa; a é o termo constante, por vezes denominado intercepção, é o valor da variável dependente (neste caso, o diagnóstico de gestação) quando todos os x s são zero; b é o coeficiente de regressão logística.

Através do Gráfico 18 conclui-se que à medida que o intervalo descongelção-IA aumenta, a taxa de gestação vai decrescendo.

Também é possível concluir que a partir dos 10 minutos, a taxa de gestação decresce abruptamente. Através do Gráfico 17, verifica-se que as curvas de frequências das fêmeas gestantes e não gestantes se comportam aproximadamente da mesma forma ao longo do intervalo descongelção-IA até aos 10 minutos. A partir deste intervalo, a frequência dos animais gestantes é quase inexistente. A partir deste intervalo de tempo, a desproporção entre fêmeas não gestantes e gestantes torna-se muito evidente. Os resultados vêm de acordo com as afirmações de Chagas e Silva (1985) e Costa *et al.* (2011).

Gráfico 17: Número de casos de fêmeas gestantes e não gestantes associadas a cada intervalo descongelção-IA observado.



NG: Não gestante;
G: Gestante.

Para além da questão da diminuição da viabilidade do sêmen com o tempo, também se demonstrou que existe uma correlação negativa entre o tempo em que há manipulação do cérvix e cornos uterinos e a taxa de gestação. Especula-se que a manipulação do cérvix faça elevar a produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pelo útero. Esta hormona tem vários efeitos conhecidos sobre o sistema imunitário. Com efeito, a $\text{PGF}_{2\alpha}$ é, *in vitro*, quimiotática relativamente aos neutrófilos. Embora não tenham sido demonstradas propriedades quimiotáticas no útero, ela pode regular positivamente funções imunológicas neste órgão. Mesmo que durante a IA seja ainda muito cedo para que possa afectar a função lútea, uma elevação da $\text{PGF}_{2\alpha}$ poderá perturbar a ovulação ou o desenvolvimento do CL (Farin, Moore & Drost, 2007). O excessivo tempo de manipulação do cérvix (local anatómico mais difícil de canular com o *pistolet* dada a natureza tortuosa das pregas cervicais) pode assim ser relacionado com a elevação da probabilidade de traumatismo.

4.4.2.7 Condições ambientais e stress hipertérmico

Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas para nenhum dos factores ambientais em estudo, média do ITH ou número de dias a que os animais estiveram expostos a $\text{ITH} \geq 75$ (Tabela 30).

Tabela 30: Valor de p associado a cada uma das variáveis ambientais.

Factor	Valor de p		Interpretação
	-30dias à IA	IA até +30 dias	
Temperaturas			Temperaturas,
Mínima	0,551	0,308	humidade relativa,
Média	0,881	0,846	velocidade do vento e
Máxima	0,975	0,781	precipitação, dos 30
Humidade relativa	0,159	0,499	dias antes aos 30 dias
Velocidade do Vento	0,115	0,882	após IA sem relação
Precipitação	0,391	0,435	com taxa de gestação.
ITH	0,874	0,886	Média do ITH dos 30 dias anteriores aos 30 dias posteriores à IA, sem relação com a taxa de gestação.
Nº dias expostos a ITH\geq74	0,970	0,599	Número de dias expostos a ITH \geq 75, 30 dias anteriores ou posteriores à IA, não relacionado com a taxa de gestação (até 4 dias, com um máximo de 2 dias consecutivos).

Relativamente ao ITH, verificou-se não existir diferença significativa entre as médias dos animais gestantes e não gestantes, nos dois intervalos de tempo estudados (Tabela 31).

Tabela 31: Média do ITH associada aos animais gestantes e não gestantes.

Diagnóstico de gestação	Média do ITH	
	-30 dias até IA	IA até 30 dias
Negativo	65,44 \pm 0,52	66,62 \pm 0,57
Positivo	65,49 \pm 0,42	66,66 \pm 0,46

A temperatura, humidade relativa, velocidade do vento, precipitação e o ITH não influenciaram a taxa de gestação do presente estudo, ao contrário dos resultados de Amundson *et al.* (2006). No entanto, estes autores avaliaram os efeitos na reprodução destes factores, em animais em regime de cobrição, podendo nesse caso, os factores ambientais afectar também o desempenho do macho. No caso da IA, os efeitos das variáveis ambientais sobre os gâmetas masculinos são minimizados.

Para além disso, as médias do ITH na estação quente nunca ultrapassaram 72,4 e valores acima dos 74 só foram observados, no máximo, em 2 dias consecutivos. Isto pode não justificar a não relação entre a fertilidade e o ITH, já que há estudos que confirmam que animais expostos a ITH acima de 70, durante 8 horas, podem estar expostos a *stress*

hipertérmico (Mader et al., 2000, citado em Anónimo, n. d. b). Apesar de na generalidade dos casos se observar uma média de ITH superior a 70 nas épocas quentes, no presente trabalho, não se registaram diferenças significativas entre a taxa de gestação obtida nas épocas quentes e frias ($p=0,96$).

A justificação para isto poderá ter a ver com as épocas quentes e frias pouco extremas do clima mediterrânico associado ao facto dos animais terem tido acesso a zonas de sombras na estação quente, bebedouros com água constantemente renovada e de acesso relativamente fácil e, raças adaptadas ao clima (ver 4.4.2.1).

Uma das limitações deste trabalho foi o facto de tentar-se avaliar o *stress* hipertérmico dos animais, sem ter em conta os factores individuais. Idealmente, a temperatura rectal e a frequência respiratória deveriam ter sido registadas, como sendo as mensurações mais eficazes no balanço térmico: ganho e perda de calor através da radiação, condução e convecção (Silanikove, 2000). No entanto, tal não foi equacionado dado o regime semi-extensivo a que as fêmeas se encontravam sujeitas.

V. CONCLUSÃO

Dos factores em estudo, é possível concluir que os factores individuais idade, número de partos, intervalo entre o último parto e a IA e raça não influenciaram a eficiência da IATF em fêmeas bovinas aleitantes. Outros factores não associados à vaca, como o tipo de IA (intracornual profunda, convencional ou cervical), o técnico de inseminação e factores ambientais (temperatura, humidade relativa, velocidade do vento e precipitação) também não afectaram as taxas de gestação.

Os factores que tiveram influência na eficiência da IATF no presente estudo foram o intervalo entre a descongelação da palhinha de sêmen e a presença de trauma associado à técnica. Para além disto, verificou-se que estes dois factores relacionavam-se entre si.

Verificou-se que quanto maior era o intervalo descongelação-IA, menor a probabilidade da fêmea ficar gestante e, que, decorridos 10 ou mais minutos após descongelação, a taxa de gestação diminuiu abruptamente, aproximando-se de zero.

A presença de trauma durante a IA mostrou influenciar negativamente o sucesso da técnica, reflectindo-se em taxas de gestação inferiores.

A taxa de gestação global foi de 61%, o que significa ter sido consideravelmente boa. Para este sucesso podem ser apontados os factores de manuseio, que foram preocupação constante ao longo do trabalho.

Apesar de se considerar o factor técnico de inseminação como não tendo influência na eficiência da IATF, seria necessário outro estudo, já que existiram limitações no presente devido ao facto de um pequeno número de IA ter sido executado por um técnico por incapacidade de concretização do outro.

Outra das limitações foi a influência dos factores ambientais, já que não foi possível avaliar o possível *stress* associado a cada animal. Este factor foi avaliado tendo como base apenas temperaturas, humidades relativas, velocidades do vento e precipitação registadas no ambiente e não foi tida em conta a resposta individual de cada animal a esses elementos.

VI. BIBLIOGRAFIA

- Abeygunawardena, H. & Dematawewa, C. M. B. (2004). Pre-pubertal and postpartum anestrus in tropical Zebu cattle. *Animal Reproduction Science*, 82-83, 373–87. Doi:10.1016/j.anireprosci.2004.05.006
- Amundson, J. L., Mader, T. L., Rasby, R. J., Hu, Q. S. (2006). Environmental Effects on Pregnancy Rate in Beef Cattle. *Journal of Animal Science*, 84, 3415-3420. Doi: 10.2527/jas.2005-611
- Anónimo (2013). Examen objetivo particular. In *Semiología del aparato reproductor macho* (pp. 14–29). Buenos Aires: Facultad de ciencias veterinarias - Universidad de Buenos Aires.
- Anónimo (n. d. a). Tecnicas de inseminacion. In Curtiss manual de entrenamiento (pp. 14 – 20).
- Anónimo (n.d. b). *Federation of Animal Science Societies*. Acedido em Junho 14, 2014, disponível em <http://www.fass.org/docs/agguide3rd/Chapter06.pdf>
- Apifarma (2014). Simposium veterinário apifarma. Acedido em Jan. 8, 2014, disponível em <http://www.apifarma.pt/simposiumvet/Paginas/default.aspx>
- Atkins, J. A, Busch, D. C., Bader, J. F., Keisler, D. H., Patterson, D. J., Lucy, M. C. & Smith, M. F. (2008). Gonadotropin-releasing hormone-induced ovulation and luteinizing hormone release in beef heifers: effect of day of the cycle. *Journal of Animal Science*, 86(1), 83–93. Doi:10.2527/jas.2007-0277
- Atkins, J. A., Pohler, K. G. & Smith, M. F. (2013). Physiology and endocrinology of puberty in heifers. *The veterinary clinics of North America. Food Animal Practice*, 29(3), 479–92. Doi:10.1016/j.cvfa.2013.07.008
- Ax, R. L., Bowen, A. J., & Rhoads, M. L. (2008). CIDRs as a reproductive management tool. In *Proceeding of the NAVC North American Veterinary Conference* (pp. 14 – 16). Orlando, Florida, USA: International veterinary information service.
- Ax, R. L., McCauley, T. C. & Marks, S. H. F. (2008). Relationship between sperm biology and fertility. In *Proceeding of the NAVC North American Veterinary Conference* (pp. 7 – 10). Orlando, Florida, USA: International veterinary information service.
- Ball, P. J. H. & Peters, A. R. (2004a). Reproductive efficiency in cattle production. In *Reproduction in Cattle* (3rd ed., pp. 1 – 13). Oxford - U.K.: Blackwell Publishing.
- Ball, P. J. H. & Peters, A. R. (2004b). The ovarian cycle. In *Reproduction in Cattle* (3rd ed., pp. 40 – 56). Oxford - U.K.: Blackwell Publishing.
- Ball, P. J. H. & Peters, A. R. (2004c). Artificial control of the oestrus cycle. In *Reproduction in Cattle* (3rd ed., pp. 110 – 124). Oxford - U.K.: Blackwell Publishing.
- Baruselli, P. S. (2007). Reprodução de bovinos. In M. Ptaszynska (Ed.), *Compêndio de Reprodução Animal* (9th ed., pp. 13 – 124). Intervet internacional.

- Bayril, T. & Yilmaz, O. (2013). Effect of timing of artificial insemination after synchronization of ovulation on reproductive performance in holstein dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, 45(2), 411–6. Doi:10.1007/s11250-012-0231-0
- Bó, G. A., Baruselli, P. S. & Mapletoft, R. J. (2013). Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 10(3), 137–142
- Bozkurt, T., Türk, G. & Gür, S. (2007). Effect of clitoral massage on levels of estradiol , testosterone , dehydroepiandrosterone sulphate and pregnancy rate in cows. *Veterinarski Arhiv*, 77(1), 59–67.
- Bridges, G. A. & Day, M. L. (2013). Applications of physiological principles to optimize timed pregnancy rates with the 5-d CoSynch + CIDR protocol in cattle. In *Proceedings of the Society for Theriogenology 2013 annual conference* (pp. 245 – 252). Louisville, KY, USA: Clinical Theriogenology.
- Brusveen, D. J., Cunha, A. P., Silva, C. D., Cunha, P. M., Sterry, R. A., Silva, E. P. B., Guenter, J. N. & Wiltbank, M. C. (2008). Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(3), 1044–1052. Doi:10.3168/jds.2007-0409
- Burns, B. M., Fordyce, G. & Holroyd, R. G. (2010). A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf—Implications for reproductive efficiency in northern Australia. *Animal Reproduction Science*, 122, 1–22.
- Busch, D. C., Wilson, D. J., Schafer, D. J., Leitman, N. R., Haden, J. K., Ellersieck, M. R., Smith, M. F. & Patterson, D. J. (2007). Comparison of progestin-based estrus synchronization protocols before fixed-time artificial insemination on pregnancy rate in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 85(8), 1933–9. Doi:10.2527/jas.2006-845
- Cammack, K. M., Thomas, M. G. & Enns, R. M. (2009). Review: reproductive traits and their heritabilities in beef cattle. *The Professional Animal Scientist*, 25, 517–528
- Campos, W. E., Saueressig, M. G., Saturnino, H. M., Souza, B. M., Amaral, T. B. & Ferreira, F. (2005). Avaliação do touro. In *Manejo Reprodutivo em Gado de Corte*. (pp. 40 – 44). Brasil: Embrapa.
- Cavalieri, J., Hepworth, G., Fitzpatrick, L. a, Shephard, R. W. & Macmillan, K. L. (2006). Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. *Theriogenology*, 65(1), 45–64. Doi:10.1016/j.theriogenology.2005.10.005
- Cerón, J. H. (2007). Endocrinología del ciclo estral. In *Manejo Reprodutivo en Bovinos en Sistemas de Producción de Leche* (pp. 44 – 60). México: Universidad nacional autónoma de México.
- Ceva Saúde Animal (2010). Ceva: *Juntos além da saúde animal*. Acedido em Dez. 13, 2013, disponível em <http://www.ceva.pt/Produtos/Lista-de-Produtos/PRID-DELTA-Progesterona-1-55-g>

- Chagas e Silva, J. N. (1985). Método recto-vaginal ou de fixação cervical. In *III Curso de formação para médicos-veterinários directores de sub-centro de inseminação artificial: II parte – sémen congelado de bovinos. Maneio e aplicação*. Estação nacional de selecção e reprodução animal, Venda Nova (Amadora).
- Costa, A. N. L., Airton, A. A. & Feitosa, J. V. (2011). Particularities of bovine artificial insemination. In *Artificial Insemination in Farm Animals* (pp. 153 – 167). Rjeka, Croatia: InTech.
- Crowe, M. A. (2008). Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 43 Suppl 5, 20–8. Doi:10.1111/j.1439-0531.2008.01210.
- Curry, M. R. (2000). Cryopreservation of semen from domestic livestock. *Reviews of Reproduction*, 5(1), 46–52.
- Dahlen, C. R., Lamb, G. C., Zehnder, C. M., Miller, L. R. & DiConstanzo, A. (2001). *University of Minnesota*. Acedido em Dez. 20, 2013, disponível em http://www.mnbeef.umn.edu/cow-calf/2001/2001_r6.pdf
- Dalton, J. C., Nadir, S., Noftsinger, M. & Saacke, R. G. (2012). Insemination related factors affecting fertilization in cattle. In *Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle* (pp. 103 – 118). Sioux Falls, SD.
- Day, M. L. & Bridges, G. A. (2013). Cattle physiology and the CO-Synch + CIDR synchronization program. In *Proceedings of Theriogenology 2013 Annual Conference* (pp. 237 – 243). Louisville, USA: Clinical theriogenology.
- De Kruif, A. (1978). Factors influencing the fertility of a cattle population. *Journal of Reproduction and Fertility*, 54(2), 507–18.
- De Rensis, F. & Scaramuzzi, R. J. (2003). Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. *Theriogenology*, 60(6), 1139–1151. Doi:10.1016/S0093-691X(03)00126-2
- Dejarnette, M (n. d. a). *Select sires*. Acedido em Dez. 13, 2013, disponível em http://www.selectsires.com/programs/docs/ovsynch_cosynch_presynch.pdf
- Dejarnette, M (n. d. b). *Select sires*. Acedido em Fev.7, 2014, disponível em <http://www.bovine-elite.com/NewsHandlingSemen.pdf>
- Dunlap, S. & Vincent, C. (1971). Influence of postbreeding thermal stress on conception rate in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 32, 1216–1218.
- Durão, I. B. (1994). A inseminação artificial em Portugal In *Análise funcional da actividade de um sub-centro de inseminação artificial de bovinos de carácter público* (pp. 56 – 66) Trabalho de fim de curso. Évora: Universidade de Évora.
- El-Debel, E. D., El-Sabbagh, K. M., Sosa, G. A., Randa, S. & El-Azab, A. I. (n.d.). Acedido em Mar. 11, 2014, disponível em <http://esarf2.tripod.com/eldeeb.htm>

- Farin, P. W., Moore, K. & Drost, M. (2007). Assisted Reproductive Technologies in Cattle In R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.), *Large Animal Theriogenology 2* (2nd ed., pp. 496–508). Saunders.
- Fike, K. E., Bergfeld, E. G., Cupp, a. S., Kojima, F. N., Mariscal, V., Sanchez, T. S., Wehrman, M. E. & Kinder, J. E. (1996). Influence of fenceline bull exposure on duration of postpartum anoestrus and pregnancy rate in beef cows. *Animal Reproduction Science*, 41(3-4), 161–167. Doi:10.1016/0378-4320(95)01446-2
- Forde, N., Beltman, M. E., Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J. F. & Crowe, M. A. (2011). Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 124(3-4), 163–9. Doi:10.1016/j.anireprosci.2010.08.025
- Fordyce, G., Entwistle, K., Norman, S., Perry, V., Gardiner, B. & Fordyce, P. (2006). Standardising bull breeding soundness evaluations and reporting in Australia. *Theriogenology*, 66(5), 1140–8. Doi:10.1016/j.theriogenology.2006.03.009
- Frandsen, R. D., Wilke, W. L. & Fails, A. D. (2003). The ovary and estrous cycles. In *Anatomy and Physiology of Farm Animals* (7th. edition, pp. 429 – 438). Wiley-Blackwell.
- Freixal, R. M. & Barros, J. F. C. (2012). Pastagens (pp. 8-28). Évora, Portugal: Universidade de Évora.
- Fricke, P. (2004). University of Wisconsin: Extension. Acedido em Fev. 8, 2014, disponível em <http://www.uwex.edu/ces/dairyrepro/documents/ConfImplementationEvolutionTAIProtocols.pdf>
- Geary, T. W. & Whittier, J. C. (1998). Effects of a timed insemination following synchronization of ovulation using the ovsynch or CO-synch protocol in beef cows. *The Professional Animal Scientist*, 14, 217–220.
- Geary, T. W., Downing, E. R., Bruemmer, J. E. & Whittier, J. C. (2000). Ovarian and estrous response of suckled beef cows to the select synch estrous synchronization protocol. *The Professional Animal Scientist*, 16, 1–5.
- Geary, T. W., Whittier, J. C., Hallford, D. M. & Macneil, M. D. (2001). Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. *Journal of Animal Science*, 79, 1–4.
- Germano, S. & Jorge, J. (2011). O seu touro é fértil ? – Importância da avaliação reprodutiva dos machos. In *III Jornadas do Hospital Veterinário Muralha de Évora*. Évora: Hospital Veterinário Muralha de Évora.
- Gordon, I. (1996a). Areas of controlled reproduction in cattle. In *Controlled Reproduction in Cattle & Buffaloes: controlled reproduction in farm animals series* (1st ed., p. 9). New York - USA: CAB International.
- Gordon, I. (1996b). Factors affecting fertility of the beef cow. In *Controlled Reproduction in Cattle & Buffaloes: controlled reproduction in farm animals series* (1st ed., pp. 35 - 39). New York - USA: CAB International.

- Gordon, I. (1996c). Artificial control of oestrus and ovulation. In *Controlled Reproduction in Cattle & Buffaloes: controlled reproduction in farm animals series* (1st ed., pp. 133 - 165). New York - USA: CAB International.
- Gordon, I. (1996d). Controlling the calving interval. In *Controlled Reproduction in Cattle & Buffaloes: controlled reproduction in farm animals series* (1st ed., pp. 215 - 244). New York - USA: CAB International.
- Gordon, I. (2004a). The changing agricultural scene. In I. Gordon (Ed.), *Reproductive Technologies in Farm Animals* (1st ed., pp. 1 - 9). Wallingford: Cabi. Doi:10.1079/9780851998626.0000
- Gordon, I. (2004b). Current application of reproductive technologies. In I. Gordon (Ed.), *Reproductive Technologies in Farm Animals* (1st ed., pp. 18 - 21). Wallingford: Cabi. Doi:10.1079/9780851998626.0000
- Gordon, I. (2004c). Artificial insemination. In I. Gordon (Ed.), *Reproductive Technologies in Farm Animals* (1st ed., pp. 49 - 53). Wallingford: Cabi. Doi:10.1079/9780851998626.0000
- Gordon, I. (2004d). Controlling oestrus and ovulation. In I. Gordon (Ed.), *Reproductive Technologies in Farm Animals* (1st ed., pp. 145 - 155). Wallingford: Cabi. Doi:10.1079/9780851998626.0000
- Gordon, I. (2004e). Control of post-partum ovarian activity. In I. Gordon (Ed.), *Reproductive Technologies in Farm Animals* (1st ed., pp. 169 - 174). Wallingford: Cabi. Doi:10.1079/9780851998626.0000
- Gordon, I. (2004f). Control of seasonal breeding. In I. Gordon (Ed.), *Reproductive technologies in farm animals* (1st ed., pp. 178 - 183). Wallingford: Cabi. Doi:10.1079/9780851998626.0000
- Gordon, I. (2004g). controlling onset of puberty. In I. Gordon (Ed.), *Reproductive technologies in farm animals* (1st ed., pp. 255 - 257). Wallingford: Cabi. Doi:10.1079/9780851998626.0000
- Griffith, M. K. & Williams, G. L. (1996). Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance of beef cows. *Biology of Reproduction*, 54(4), 761-8.
- Grimard, B., Humblot, P., Ponter, A., Mialot, J., Sauvant, D. & Thibier, M. (1995). Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, 104, 173-179.
- Hansen, P. J. (2009). Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Philosophical transactions of the royal society of London. Series B, Biological Sciences*, 364(1534), 3341-50. Doi:10.1098/rstb.2009.0131
- Humblot, P. (2001). Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology*, 56(01), 1417-1433.

- Hunter, R. H. (2001). New breeding opportunities with deep cornual insemination: exploiting modern sperm technologies in cattle. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 36(3-4), 217–22.
- Instituto Nacional de Estatística (2014). Balança Alimentar Portuguesa 2008-2012. Acedido em Maio, 27, 2014, disponível em file:///C:/Users/Flor/Downloads/02BAP_2008-2012.pdf.
- Johnson, S. K. & Funston, R. N. (2013). Postbreeding heifer management. *The Veterinary clinics of North America. Food Animal Practice*, 29(3), 627–41. Doi:10.1016/j.cvfa.2013.07.002
- Jordan, E. R. (2003). Effects of heat stress on reproduction. *Journal of Dairy Science*, 86, 104–114. Doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)74043-0
- Jordan, E. R. (2007). Texas dairy matters – higher education supporting the industry. Acedido em Fev. 10, 2014, disponível em: <http://texasdairymatters-org.wpengine.netdna-cdn.com/files/2010/06/Understanding-Ovsynch.pdf>
- Kasimanickam, R., Asay, M., Firth, P., Whittier, W. D. & Hall, J. B. (2012). Artificial insemination at 56 h after intravaginal progesterone device removal improved AI pregnancy rate in beef heifers synchronized with five-day CO-Synch + controlled internal drug release (CIDR) protocol. *Theriogenology*, 77(8), 1624–1631. Doi:10.1016/j.theriogenology.2011.12.007
- Kastelic, J. P., Cook, R. B. & Coulter, G. H. (2000). Scrotal/Testicular thermoregulation in bulls. In *Topics in bull fertility* (pp. 1–6). International veterinary information service.
- Lamb, G. C. (2010). Estrus synchronization protocols for cows. In *Proceeding, applied reproductive strategies in beef cattle* (pp. 113–128). Texas, USA.
- Lamb, G. C., Cartmill, J. A. & Stevenson, J. S. (2004). Effectiveness of select synch (Gonadotropin-releasing hormone and Prostaglandin F_{2α}) for synchronizing estrus in replacement beef heifers. *The Professional Animal Scientist*, 20, 27–33.
- Lamb, G. C., Dahlen, C. R., Larson, J. E., Marquezini, G. & Stevenson, J. S. (2010). Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. *Journal of Animal Science*, 88(13), 181–192. Doi:10.2527/jas.2009-2349
- Lamb, G. C., Stevenson, J. S., Kesler, D. J., Garverick, H. A., Brown, D. R. & Salfen, B. E. (2001). Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F_{2α} for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *Journal of Animal Science*, 79, 2253–2259.
- Lane, E. A., Austin, E. J. & Crowe, M. A. (2008). Oestrous synchronisation in cattle -current options following the EU regulations restricting use of oestrogenic compounds in food-producing animals: a review. *Animal Reproduction Science*, 109(1-4), 1–16. Doi:10.1016/j.anireprosci.2008.08.009
- Laranjinha, A., Correia, A., Catita, D., Soares, G., Silva, I., Veríssimo, F., Rodrigues, R. & Garcia, S. (2013). O consumo de carne de bovino em Portugal. *Notícias Limousine*, 21, 34-35.

- Larson, J. E. & Randle, R. F. (2007). Heifer development: nutrition, health and reproduction In R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.), *Large Animal Theriogenology* 2 (2nd ed., pp. 457–463). Saunders.
- Larson, J. E., Lamb, G. C., Stevenson, J. S., Johnson, S. K., Day, M. L., Geary, T. W., Dejarnette, J. M., Schrick, F. N., Diconstanzo, A., Arseneau, J. D & Kesler, D. J. (2006). Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F2 α and progesterone. *Journal of Animal Science*, 84, 332–342.
- Larson, R. L. & Tyler, J. W. (2005). Reducing calf losses in beef herds. *The veterinary clinics of North America. Food Animal Practice*, 21(2), 569–84. Doi:10.1016/j.cvfa.2005.02.009
- Leitman, N. R., Busch, D. C., Bader, J. F., Mallory, D. A., Wilson, D. J., Lucy, M. C., Ellersieck, M. R., Smith, M. F. & Patterson, D. J. (2008). Comparison of protocols to synchronize estrus and ovulation in estrous-cycling and prepubertal beef heifers. *Journal of Animal Science*, 86(8), 1808–18. Doi:10.2527/jas.2008-0970
- Leitman, N. R., Busch, D. C., Wilson, D. J., Mallory, D. A., Ellersieck, M. R., Smith, M. F. & Patterson, D. J. (2009). Comparison of controlled internal drug release insert-based protocols to synchronize estrus in prepubertal and estrous-cycling beef heifers. *Journal of Animal Science*, 87(12), 3976–82. Doi:10.2527/jas.2009-2250
- Leroy, J. L. M. R., Vanholder, T., Opsomer, G., Van Soom, A. & de Kruif, A. (2006). The in vitro development of bovine oocytes after maturation in glucose and beta-hydroxybutyrate concentrations associated with negative energy balance in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 41(2), 119–23. Doi:10.1111/j.1439-0531.2006.00650.x
- Lopes da Costa, L. (2008). Controlo da reprodução em efectivos bovinos de produção de carne. *Revista Portuguesa de Buiatria*, 12 (13), 5–14.
- Lopes da Costa, L., Leitão Alegre, C. & Morais Gradil, C. (1990). Gestão da fertilidade em efectivos bovinos leiteiros. *Medicina Veterinária*, 37, 39-46.
- Lucy, M. C., Billings, H. J., Butler, W. R., Ehnis, L. R., Fields, M. J., Kesler, D. J., Kinder, J. E., Mattos, R. C., Short, R. E., Thatcher, W. W., Wettermann, R. P., Yelich, J. V. & Hafs, H. D. (2001). Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF2 α for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. *Journal of Animal Science*, 79, 982–995.
- Machado, R., Corrêa, R. F., Barbosa, R. T. & Bergamaschi. (2008). Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes 57. *Circular técnica*, 1–16.
- Mallory, D. A., Nash, J. M., Ellersieck, M. R., Smith, M. F. & Patterson, D. J. (2011). Comparison of long-term progestin-based protocols to synchronize estrus before fixed-time artificial insemination in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 89(5), 1358–65. Doi:10.2527/jas.2010-3694

- Martin, L. C., Brfnkst, J. S., Bourdont, R. M. & Cundiff, L. V. (1992). Genetic effects on and subsequent heifer puberty. *Journal of Animal Science*, 70, 4006–4017.
- Martinez, M. F., De Nava, G., Demmers, K. J., Tutt, D., Rodriguez Sabarrós, M., Smaill, B., Corti, M. & Juengel, J. (2012). Intravaginal progesterone devices in synchronization protocols for artificial insemination in beef heifers. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 47(2), 230–7. Doi:10.1111/j.1439-0531.2011.01833.x
- Martinez, M., Adams, G., Kastelic, J. & Mapletoft, R. (2001). Artificial insemination without heat detection in beef heifers. *Large Animal Veterinary Rounds*, 1(2), 1–7.
- Meikle, A., Kulcsar, M., Chilliard, Y., Febel, H., Delavaud, C., Cavestany, D. & Chilbroste, P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction (Cambridge, England)*, 127(6), 727–37. Doi:10.1530/rep.1.00080
- Miller, V. & Ungerfeld, R. (2008). Weekly bull exchange shortens postpartum anestrus in suckled beef cows. *Theriogenology*, 69, 913-917
- Montiel, F. & Ahuja, C. (2005). Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science*, 85, 1–26.
- Morrel, J. M. (2011). Artificial insemination: current and future trends. In *Artificial Insemination in Farm Animals* (1st ed., pp. 1 – 25). Rijeka, Croatia: InTech.
- Mufti, M., Alam, M., Sarker, M., Bostami, A. & Das, N. (2010). Study on factors affecting the conception rate in red Chittagong cows. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 39 (1-2), 52-57.
- Nash, J. M., Mallory, D. A., Ellersieck, M. R., Pooock, S. E., Smith, M. F. & Patterson, D. J. (2012). Comparison of long- versus short-term CIDR-based protocols to synchronize estrus prior to fixed-time AI in postpartum beef cows. *Animal Reproduction Science*, 132(1-2), 11–16. Doi:10.1016/j.anireprosci.2012.03.013
- Nebel, R. L. (2007). Techniques for artificial insemination of cattle with frozen-thawed semen In R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.), *Large Animal Theriogenology* 2 (2nd ed., pp. 253 – 258). Saunders.
- Neto, A. C. E. (1999). Gestão de sistemas de produção de bovinos de corte: índices zootécnicos e econômicos como critérios para tomada de decisão. In *V Simpósio de produção de gado de corte* (pp. 32-46). Paraná, Brasil.
- Noakes, D. E., Parkinson, T. J. & England, G. C. W. (2001). Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. In Saunders (Ed.), *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics* (Eight., pp. 3 – 51).
- O'Connor, M. (1993). Characteristics of the estrous cycle. In *Heat detection and timing of insemination for cattle* (p. 4). USA: Distribution Center, The Pennsylvania State University.

- Palmeiro, A. (2013). Otimização da eficiência reprodutiva de uma vacada no Alentejo – Estudo de caso. Dissertação de mestrado integrado em medicina veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Paloma, J. A. G. (2013). Valoración de la aptitud reproductiva de toros de monta natural. *Tecnología Agroalimentaria*, 11, 33–38.
- Parish, J. A., Larson, J.E. & Vann, R.C. (2010). Reproductive management of beef cattle herds. Mississippi State University, 2615, 1-6.
- Patterson, D. J., & Smith, M. F. (2007). Progestogen-based estrus synchronization for beef replacement heifers and cows. In R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.), *Large Animal Theriogenology* 2 (2nd ed., pp. 278–286). Saunders.
- Patterson, D. J., Thomas, J. M., Martin, N. T., Nash, J. M. & Smith, M. F. (2013). Control of estrus and ovulation in beef heifers. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 29(3), 591–617. Doi:10.1016/j.cvfa.2013.07.009
- Paula-Lopes, F. F., Chase Jr, C. C., Al-Katanani, Y. M., Krininger, C. E., Rivera, R. M., Tekin, S., Majewski, A. C., Ocon, O. M., Olson, T. A. & Hansen, P. J. (2003). Genetic divergence in cellular resistance to heat shock in cattle: differences between breeds developed in temperate versus hot climates in responses of preimplantation embryos, reproductive tract tissues and lymphocytes to increased culture temperatures. *Reproduction*, 125(2), 285-294.
- Paula-Lopes, F. F., Lima, R. S., Risolia, P. H. B. & Ispada, J. (2012). Heat stress induced alteration in bovine oocytes: functional and cellular aspects. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 9, 395–403.
- Plante, C., Pollard, J. & Bringans, M. (2007). Estrus Synchronization and Artificial Insemination in Domesticated Cervids In R. S. Youngquist & W. R. Threlfall (Eds.), *Large Animal Theriogenology* 2 (2nd ed., pp. 987–991). Saunders.
- Pursley, J. R., Mee, M. O. & Wiltbank, M. C. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology*, 44(95), 915–923.
- Pursley, R. J., Silcox, R. W. & Wiltbank, M. C. (1998). Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81(8), 2139–2144. Doi:10.3168/jds.S0022-0302(98)75790-X
- Randel, R. D. (1990). Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *Journal of Animal Science*, 68, 853–862.
- Rathbone, M. J., Bunt, C. R. & Burggraff, S. (1997). United States patent. Acedido em Dez. 18, 2013, disponível em <https://docs.google.com/viewer?url=patentimages.storage.googleapis.com/pdfs/US6423039.pdf>
- Ribeiro, E. S., Bisinotto, R. S., Favoreto, M. G., Martins, L. T., Cerri, R. L. A., Silvestre, F. T., Greco, L. F.; Thatcher, W. W. & Santos, J. E. P. (2012). Fertility in dairy cows following presynchronization and administering twice the luteolytic dose of

- prostaglandin F2 α as one or two injections in the 5-day timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*, 78, 273–284. Doi:10.1016/j.theriogenology.2012.01.012
- Rodrigues, A. M. (1998). Sistemas de Produção de Bovinos de Carne. Revista Técnica do Extensivo, Escola Superior Agrária de Castelo Branco, ano I, 0, Pp. 13-21.
- Romão, R. & Bettencourt, E. (2009). Maneio reprodutivo em explorações de bovinos de carne: possibilidades técnicas. In *Primeiras jornadas do Hospital Veterinário Muralha de Évora* (pp. 1 – 3). Évora, Portugal: Hospital veterinário muralha de Évora.
- Russi, L. S., Costa e Silva, E. V. & Zúccari, C. E. (2009). Importância da capacitação de recursos humanos em programas de inseminação artificial. *Revista brasileira de reprodução animal*, 33 (1), 20 – 25.
- Samadi, F., Phillips, N. J., Blache, D., Martin, G. B. & D’Occhio, M. J. (2013). Interrelationships of nutrition, metabolic hormones and resumption of ovulation in multiparous suckled beef cows on subtropical pastures. *Animal Reproduction Science*, 137(3-4), 137–44. Doi:10.1016/j.anireprosci.2012.12.012
- Sanz, A., Casasús, I., Villalba, D. & Revilla, R. (2003). Effects of suckling frequency and breed on productive performance, follicular dynamics and postpartum interval in beef cows. *Animal Reproduction Science*, 79(1-2), 57–69. Doi:10.1016/S0378-4320(03)00116-7
- Senger, P. L. (2003). Reproductive cyclicity - The luteal phase. In *Pathways to pregnancy and parturition* (2nd edition, pp. 188–213). Washington, USA: Current conceptions, Inc.
- Short, R. E., & Adams, D. C. (1998). Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. *Journal of Animal Science*, 68, 29–39.
- Short, R. E., Grings, E. E., MacNeil, M. D., Heitschmidt, R. K., Haferkamp, M. R. & Adams, D. C. (1996). Effects of time of weaning, supplement, and sire breed of calf during the fall grazing period on cow and calf performance. *Journal of Animal Science*, 74, 1701–1710.
- Silanikove, N. (2000). Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livestock Production Science*, 67(1-2), 1–18. Doi:10.1016/S0301-6226(00)00162-7
- Silveira, E. C., Bortolotti, L. A., Morotti, F., Silva-Santos, K. C., Santos, G. M. G., Andrade, E. R. & Seneda, M. M. (2013) Insemination of four cows per dose of frozen semen with a fixed-time artificial insemination protocol. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 10(2), 124-126.
- Smith, M. F., Pohler, K. G., Perry, G. A. & Patterson, D. (2013). Physiological factors that affect pregnancy rate to artificial insemination in beef cattle. In *Proceedings, applied reproductive strategies in beef cattle* (pp. 27–45). Stauton, VA.
- Spitzer, J. C. (2000). Bull breeding soundness evaluation: current status. *International veterinary information service*, 1–5.

- Spitzer, J. C., Hopkins, F. M. & Chenoweth, P. J. (2011). New guidelines for breeding soundness evaluation (BSE) of bulls. *Beef cattle information - Clemson cooperative extension*, 1–4.
- Stagg, K., Spicer, L. J., Sreenan, J. M., Roche, J. F. & Diskin, M. G. (1998). Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biology of Reproduction*, 59(4), 777–83.
- Stevenson, J. S., Thompson, K. E., Forbes, W. L., Lamb, G. C., Grieger, D. M. & Corah, L. R. (2000). Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F2alpha with or without timed insemination. *Journal of Animal Science*, 78, 1747–1758.
- Stevenson, J.S., Schmidt, M. K. & Call, E. P. (1983). Factors affecting reproductive performance of dairy cows first inseminated after five weeks postpartum. *Journal of Dairy Science*, 66 (5), 1148-54.
- Tauck, S. A., Olsen, J. R., Wilkinson, J. R. C. & Berardinelli, J. G. (2010). Duration of daily bull exposure on resumption of ovulatory activity in postpartum, primiparous, suckled, beef cows. *Animal Reproduction Science*, 118(1), 13–8. Doi:10.1016/j.anireprosci.2009.06.010
- Tenhagen, B.-A., Surholt, R., Wittke, M., Vogel, C., Drillich, M. & Heuwieser, W. (2004). Use of Ovsynch in dairy herds—differences between primiparous and multiparous cows. *Animal Reproduction Science*, 81(1-2), 1–11. Doi:10.1016/j.anireprosci.2003.08.009
- Twagiramungu, H., Guilbault, L. A. & Dufour, J. J. (1995). Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review . *Journal of Animal Science*, 73, 3141–3151.
- Twagiramungu, H., Guilbault, L. A., Proulx, J. G. & Dufour, J. J. (1994). Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with buserelin and cloprostenol. *Journal of Animal Science*, 72, 1796–1805.
- Verberckmoes, S., Van Soom, A. & de Kruif, A. (2004). Intra-uterine insemination in farm animals and humans. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 39(3), 195–204. Doi:10.1111/j.1439-0531.2004.00512.x
- Vickers, M. (2010). Optimising suckler herd fertility for better returns. Eblex beef brp manual, 8, 1-17.
- Vissac, B. (n. d.). Food and Agriculture Organization of the United Nations: Document Repository. Acedido em Julho 1, 2014, disponível em <http://www.fao.org/docrep/004/x6500e/x6500e16.htm>
- Webb, R., Garnsworthy, P. C., Gong, J. & Armstrong, D. G. (2004). Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. *Journal of Animal Science*, 82, 63–64.
- Wiebold, J. L. (1988). Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, 84(2), 393–9.

- Williams, G. L. & Amstalden, M. (2010). Understanding postpartum anestrus and puberty in the beef female. In *Proceeding, applied reproductive strategies in beef cattle* (pp. 55–71). Texas, USA.
- Williams, G. L., Gazal, O. S., Vega, G. A. G. & Stanko, R. L. (1996). Mechanisms regulating suckling-mediated anovulation in the cow. *Animal Reproduction Science*, 42(1-4), 289–297. Doi:10.1016/0378-4320(96)01531-X
- Wiltbank, J. N. (1970). Research needs in beef cattle reproduction. *Journal of Animal Science*, 31, 755–762.
- Wiltbank, M. C. & Pursley, J. R. (2014). The cow as an induced ovulator: timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology*, 81, 170–185.
- Wulster-Radcliffe, M., Wang, S. & Lewis, G. S. (2004). Transcervical artificial insemination in sheep: effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rates. *Theriogenology*, 62 (6), 990-1002.

ANEXOS

Anexo I - Frequências absolutas (*fi*) e frequências relativas (*fr*) dos animais em estudo para cada factor.

Factor		<i>fi</i>	<i>fr</i> (%)	Total
Tipo IA	Intracornual profunda	271	70,8	383
	Convencional	106	27,7	
	Cervical	6	1,6	
Ocorrência de trauma	Atraumática	340	89,0	382
	Traumática	42	11,0	
Intervalo descongelação-deposição do sémen	≤ 5'	156	57,6	271
	6' – 10'	102	37,6	
	> 10'	13	4,8	
Técnico	A	265	68,8	385
	B	103	26,8	
	A&B	17	4,4	
Estação do ano	Fria	123	31,9	385
	Quente	262	68,1	
Número de partos	Nulípara	66	17,8	370
	Primípara	86	23,2	
	Múltipara	218	58,9	
Intervalo parto – IA (dias)	≤ 50	5	1,6	319
	51 – 70	39	12,2	
	71 – 90	157	49,2	
	> 90	118	37,0	
Raça	Blonde d'Aquitaine	9	2,3	385
	Charolesa	78	20,3	
	Limousine	247	64,2	
	Salers	51	13,2	

Anexo II – Frequências relativas por factor em estudo

Factor		% em tipo de IA			% em trauma	% em intervalo desc.-IA			% em técnico			% em estação do ano		% em nº partos			% em intervalo parto-IA				% em raça			
Tipo IA		ICP	ECU	C		≤ 5'	6' – 10'	> 10'	A	B	A&B	F	Q	N	P	M	≤50	51 - 70	71 - 90	>90	B	C	L	S
	ICP				64	65	71	62	64	86	77	84	65	71	79	70,0	100	69	78	61	89	74	69	73
	ECU				26	35	26	15	34	13	18	15	34	21	21	30	0	31	22	39	11	26	30	22
	C				10	0	3	23	2	1	6	1	2	8	0	1	0	0	0	1	0	0	1	6
Ocorrência de trauma		10	10	67		7	12	31	69	14	17	8	12	14	9	12	20	10	11	10	11	16	9	14
Intervalo desc. - IA	≤ 5'	56	66	0	39				56	83	0	59	57	55	46	63	0	77	60	55	20	66	57	55
	5' – 10'	40	31	50	46				43	15	18	36	38	32	48	36	100	15	37	44	80	34	39	33
	> 10'	4	2	50	15				1	2	82	5	5	12	7	1	0	8	3	1	0	0	4	12
Técnico	A	63	85	67	11	78	92	23				52	77	61	62	72	20	51	70	80	67	74	69	59
	B	33	12	17	6	22	6	8				44	19	29	33	26	80	44	27	18	33	24	26	31
	A&B	5	3	17	41	0	2	69				4	5	11	6	2	0	5	3	3	0	1	5	10
Estação do ano	F	38	17	17	24	40	38	39	24	52	29			44	34	30	100	39	33	19	22	36	25	63
	Q	62	83	83	76	60	62	61	76	48	71			56	66	70	0	62	67	81	78	64	75	37
Nº partos	N	18	15	83	21	24	22	62	16	18	41	24	15								0	0	8	92
	P	25	19	0	19	14	22	23	21	27	29	24	23				0	31	27	30	11	20	30	0
	M	57	67	17	60	62	56	15	63	54	29	53	62				100	69	73	70	89	80	62	8

Anexo II (continuação) – Frequência relativa por factor em estudo





Factor		% em tipo de IA			% em ocorrência de trauma	% em intervalo desc.-IA			% em técnico			% em estação do ano		% em nº partos			% em int. parto-IA				% em raça			
		ICP	ECU	C		≤ 5'	6' – 10'	> 10'	A	B	A&B	F	Q	N	P	M	≤ 50	50 - 70	71 – 90	> 90	B	C	L	S
Int. parto-IA	≤ 50	2	0	0	3	0	1	0	0	5	0	5	0		0	2					0	1	2	0
	51-70	12	13	0	12	8	3	20	9	20	20	16	11		14	12					22	8	14	0
	70 - 90	54	38	0	52	52	48	60	49	50	50	55	47		49	51					67	53	47	50
	> 90	32	489	100	33	40	48	20	42	25	30	23	43		37	34					11	39	37	50
Raça	B	3	1	0	2	1	4	0	2	3	0	2	3	0	1	4	0	5	4	1				
	C	21	19	0	29	24	19	0	22	18	6	23	19	0	19	28	20	15	26	25				
	L	62	70	50	52	58	61	54	65	63	65	50	71	29	80	66	80	80	69	72				
	S	14	10	50	17	18	17	46	11	16	29	26	7	71	0	2	0	0	1	2				

ICP – Intracornual profunda; ECU – entrada do corpo do útero; C – cervical; Desc. – descongelamento; F- Fria; Q – Quente; N – Nulíparas; P – Primíparas; M – Multíparas;

Int. – Intervalo; B – Blonde d'Aquitaine; C – charolês; L – limousine; S – Salers

* Resultados arredondados a 0 casas decimais



Anexo III – Algumas características das raças em estudo

Raça	Origem	Condições edafo-climáticas da origem	Peso médio fêmeas adultas (kg)	Peso médio machos adultos (kg)	Fonte bibliográfica	Fotografia
Blonde d'Aquitaine	França	Ancestrais escolhidos para trabalho de tracção animal numa região como os Pirinéus, com grandes amplitudes térmicas (-10°C até +40°C), relevo bastante acidentado, escassez de vegetação, solos pobres e pedregosos.	680	1134	Gillespie & Flanders, 2010; Associação Portuguesa Blonde d'Aquitaine	
Charolesa	Centro de França	Saône-et-Loire e Nièvre	680-816	907-1134	Gillespie & Flanders, 2010; Associação Portuguesa de Criadores Bovinos da Raça Charolesa	
Limousine	Sul-centro de França	Solos graníticos, ácidos e com relevo bastante acidentado, com amplitudes térmicas entre os -15° C e os 30° C, com queda de neve.	544-635	907-998	Gillespie & Flanders, 2010; Associação Portuguesa Criadores Limousine	
Salers	Auvergne, Maciço Central, região sul-centro de França	Montanhas e planaltos.	650-900	1000-1300	Gillespie & Flanders, 2010	

ANEXO IV- Médias e erro padrão associado das constantes climáticas em estudo e do ITH desde os 30 dias anteriores à IA até à IA e desde esta data até aos 30 dias posteriores.

Dia da IA	Grupo	Intervalo desde -30 dias até IA							Intervalo IA até +30 dias						
		Temperaturas (°C)							Temperaturas (°C)						
		Mín.	Méd.	Máx.	HR (%)	Vv (km/h)	Prec. (cm)	ITH	Mín.	Méd.	Max.	HR (%)	Vv (km/h)	Prec. (cm)	ITH
22-12-2010	1	9,7±1,0	12,5±0,6	13,4±0,6	80,6±2,1	4,3±0,6	6,5±1,5	55,2±1,0	11,1±0,5	13,4±0,5	14,9±0,5	83,9±1,3	4,5±0,8	4,5±1,4	56,5±0,8
26-01-2011	2	10,5±0,6	12,9±0,5	15,4±0,5	80,1±0,8	4,9±0,8	3,9±1,3	55,8±0,8	9,7±0,3	12,6±0,5	16,8±0,4	78,0±3,0	4,3±0,5	3,9±1,3	55,2±0,7
27-05-2011	3	18±0,4	23±0,7	27,2±0,7	61,4±2,5	2,6±0,2	0,3±0,1	69,6±0,8	18,4±0,3	23,2±0,5	27,3±0,7	59,1±2,1	4,2±0,3	0,1±0,1	70±0,6
20-06-2011	4	18,5±0,3	22,9±0,5	26,9±0,6	60,6±2,2	3,8±0,3	0,1±0,0	69,7±0,6	19,5±0,3	25,1±0,5	29,9±0,8	54,2±1,6	4,9±0,5	0,0±0,0	72,2±0,5
27-06-2011	5	18,5±0,3	23,2±0,6	26,9±0,8	59,4±2,1	4,2±0,3	0,1±0,0	70,0±0,7	19,5±0,4	24,7±0,4	29,9±0,8	55,1±1,2	6,3±0,4	0,0±0,0	71,7±0,4
04-07-2011	6	18,5±0,3	23,7±0,6	27,9±0,9	56,7±1,6	4,1±0,3	0,0±0,0	70,5±0,7	19,2±0,4	24,3±0,5	28,5±0,5	58,8±1,2	6,1±0,4	0,0±0,0	71,4±0,6
01-08-2011	7	19,3±0,6	24,4±0,7	28,6±0,1	58,3±3,1	6,2±0,5	0,0±0,0	71,4±0,8	20,3±0,5	24,4±0,6	28,4±0,8	61,2±3,0	5,8±0,9	0,0±0,0	71,2±0,6
25-11-2011	8	13,5±0,4	16,7±0,4	19,3±0,5	74,5±2,2	4,9±0,6	0,5±0,1	61,2±0,6	11,0±0,5	13,9±0,4	16,7±0,4	77,0±1,8	2,8±0,4	0,1±0,0	57,1±0,7
19-12-2011	9	11,2±0,5	14,1±0,4	16,9±0,4	76,8±1,7	3,1±0,4	0,1±0,0	57,3±0,7	9,3±0,3	13,0±0,2	16,3±0,3	55,8±1,2	2,9±0,3	0,1±0,0	55,8±0,4
28-12-2011	10	10,5±0,4	13,4±0,4	16,3±0,4	78,0±1,6	2,9±0,4	0,1±0,0	56,4±0,6	9,1±0,3	13,1±0,2	16,6±0,3	73,7±1,3	2,7±0,3	0,0±0,0	56,0±0,3
27-01-2012	11	9,1±0,3	13,1±0,2	16,5±0,3	73,4±1,3	2,9±0,3	0,0±0,0	55,9±0,3	6,4±0,6	11,3±0,5	16,0±0,5	46,9±2,9	12,6±2,8	0,0±0,0	54,0±0,6
22-02-2012	12	6,5±0,6	11,2±0,5	15,6±0,4	49,5±3,3	12,7±2,6	0,0±0,0	53,8±0,6	10,0±0,5	14,8±0,5	19,3±0,6	59,6±0,7	5,7±1,5	0,1±0,1	58,2±0,7
30-05-2012	13	15,8±0,7	20,1±0,9	23,9±1,2	67,3±3,1	5,0±0,5	0,2±0,1	65,8±1,2	18,1±0,3	23,1±0,6	27,7±0,9	59,6±3,1	4,7±0,4	0,0±0,0	69,7±0,7
20-06-2012	14	18,0±0,3	22,5±0,5	26,4±0,7	63,5±2,6	4,7±0,3	0,0±0,0	69,3±0,6	19,6±1,0	25,0±1,2	30,4±1,7	48,7±4,4	5,2±0,4	0,0±0,0	71,0±1,2
25-06-2012	15	17,9±0,3	23,0±0,6	27,1±0,8	61,2±0,7	5,0±0,2	0,0±0,0	69,7±0,7	20,3±0,9	25,6±1,1	31,3±1,3	48,3±3,5	4,9±0,5	0,0±0,0	71,8±1,1
02-07-2012	16	17,8±0,3	22,6±0,6	27,0±0,9	59,4±3,0	4,8±0,4	0,0±0,0	59,4±0,7	20,1±0,9	25,2±0,9	31,0±0,9	54,3±3,6	4,9±0,5	0,0±0,0	72,0±0,9
09-07-2012	17	17,7±0,4	22,7±0,8	27,3±1,2	59,4±3,6	4,8±0,5	0,0±0,0	69,0±0,8	19,7±0,6	24,8±0,7	30,3±0,7	71,6±2,7	5,3±0,4	0,0±0,0	71,6±0,6
03-08-2012	18	20,0±0,8	24,9±0,8	30,5±0,8	55,1±3,2	4,7±0,4	0,0±0,0	71,8±0,7	20,0±0,4	25,2±0,5	30,5±0,6	56,6±2,7	4,7±0,3	0,0±0,0	72,4±0,5
22-08-2012	19	19,4±0,4	24,5±0,5	29,8±0,5	60,0±1,9	4,3±0,3	0,0±0,0	71,9±0,6	20,7±0,4	25,2±0,5	29,9±0,6	54,3±3,8	5,4±0,9	0,0±0,0	72,0±0,4

Mín. – mínima; Méd. – média; Máx. – máxima; HR – humidade relativa; Vv – velocidade do vento; Prec. – precipitação; ITH – índice temperatura-humidade

 época fria
 época quente

